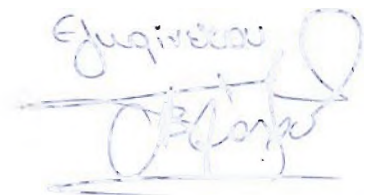


Τ.Ε.Ι. ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ - ΑΛΙΕΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ Σ.Τ.Ε.Γ.

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ
ΣΗΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΩΤΙΚΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ
ΤΟΥΣ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ
ΚΑΝΑΤΑ ΚΩΣΤΑ



ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ
ΒΛΑΧΟΣ ΝΙΚΟΣ



ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 1997

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ	4
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
3. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	8
4. ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ	12
4.1 ΣΟΥΛΦΟΝΑΜΙΔΕΣ	12
4.1.1 Δομή και τρόπος δράσης.....	12
4.1.2 Χρήση και τοξικότητα	12
4.1.3 Φαρμακοκινητικές και υπολειμματικές μελέτες	16
4.2 ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ	23
4.2.1 Δομή και τρόπος δράσης.....	23
4.2.2 Χρήση και τοξικότητα	23
4.2.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων	27
4.3 4-ΚΒΙΝΟΛΟΝΕΣ (ΤΕΤΡΑΚΒΙΝΟΛΟΝΕΣ).....	33
4.3.1 Δομή και τρόπος δράσης.....	33
4.3.2 Χρήση και τοξικότητα	34
4.3.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων	37
4.4 ΝΙΤΡΟΦΟΥΡΑΝΕΣ	40
4.4.1 Δομή και τρόπος δράσης.....	40
4.4.2 Χρήση και τοξικότητα	40
4.4.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων	43
4.5 ΧΛΩΡΑΜΦΙΚΕΝΟΛΗ	46
4.5.1 Δομή και τρόπος δράσης.....	46
4.5.2 Χρήση και τοξικότητα	46
4.5.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών	47
5. ΤΟΠΙΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ	48
5.1 ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΛΑΧΙΤΗ.....	49
5.2 ΦΟΡΜΑΛΙΝΗ.....	51
5.3 ΤΕΤΑΡΤΟΤΑΓΗ ΜΕΙΓΜΑΤΑ ΑΜΜΩΝΙΟΥ	52
5.4 ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ.....	53
5.5 ΑΛΛΑ ΕΚΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΣΙΔΙΚΑ	54
6. ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΕ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ...	55
6.1 ΜΑΛΑΚΙΑ	56
6.2 ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ	57



7. ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΑ.....	60
8. ΥΠΟΛΛΕΙΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΔΟΙ ΑΠΟΣΥΡΣΗΣ - ΜΙΑ ΚΡΙΤΙΚΗ ...	62
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	68
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	69
11. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	69

Μέσα από αυτή την εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω τον εισηγητή μου κ. Νίκο Βλάχο για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε κατά την εκπόνησή της. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη συνάδελφο Ελένη Παπαδάκη για την προσφορά και την τεχνική στήριξη, καθώς επίσης και την Άννη Παπαπαναγιώτου για την υποστήριξη και την προσφορά της.

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην προσπάθεια επίλυσης θεμάτων όπως η ανάπτυξη της εθνικής οικονομίας και η μείωση της ανεργίας μέσω της δημιουργίας και της άνθησης καινούργιων επαγγελμάτων γίνεται όλο και πιο έντονη στροφή στον κλάδο των υδατοκαλλιέργειών, παρόλο που αυτός δεν είναι πρωτοεμφανιζόμενος. Παρά το γεγονός όμως της μεγάλης ιστορίας του κλάδου, παρουσιάζονται αρκετές δυσκολίες στις υδατοκαλλιέργειες και οι κυριότερες από αυτές είναι η αντιμετώπιση διάφορων ασθενειών που παρουσιάζονται στα εκτρεφόμενα είδη ψαριών.

Είναι συνετό επομένως να ασχοληθεί ο ενδιαφερόμενος κατ' αρχάς με την υπερνίκηση αυτού του εμποδίου. Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος πρέπει να γίνει μια σωστή προσέγγιση, μια ολοκληρωμένη έρευνα, μέσα από την οποία θα μπορέσει ο ενδιαφερόμενος να γνωρίσει καλά τι έχει να αντιμετωπίσει.

Το επόμενο βήμα είναι η μελέτη των υπαρχόντων φαρμάκων, της δράσης τους, της αποτελεσματικότητας του, αλλά και τυχόν παρενεργειών τους στα ψάρια.

Είναι φανερό, πως απαιτούνται μια σειρά από μελέτες όλων αυτών και κυρίως των αποτελεσμάτων των πειραμάτων, που έχουν διεκπεραιωθεί τόσο στο παρελθόν όσο και στο παρόν. Πειραματισμοί επιστημόνων του είδους μπορούν ύστερα από προσεκτική μελέτη να διδάξουν στον ενδιαφερόμενο, που ασχολείται για πρώτη φορά με τις υδατοκαλλιέργειες πάρα πολλά. Μόνο έτσι θα μπορέσει να βγάλει κάποια συμπεράσματα, με τα οποία θα μπορέσει να διαμορφώσει δική του άποψη, θεωρία και τακτική, για το πως πρέπει να αντιμετωπίζει δυσκολίες του είδους. Και αν όχι να τις αντιμετωπίζει απολύτως (100%) αποτελεσματικά, τουλάχιστον οπλισμένος με γνώση, που είναι το ισχυρότερο "φάρμακο" και ένα σημαντικό εφόδιο, να προσπαθήσει να ανταποκριθεί στις δυσκολίες. Έτσι θα μπορέσει να ασχοληθεί σοβαρά και υπεύθυνα με τις υδατοκαλλιέργειες, που αποτελούν μια από τις μεγαλύτερες ελπίδες για ανάπτυξη και πρόοδο του τόπου μας.

Έτσι και εμείς προσπαθήσαμε να δώσουμε όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες για την χρήση και εφαρμογή των αντιβιοτικών στις υδατοκαλλιέργειες. Επικοινωνήσαμε με διάφορες μονάδες που βρίσκονται στον Ελλαδικό χώρο και τα στοιχεία που αντλήσαμε ήταν ελάχιστα. Μέσα όμως από αυτά τα στοιχεία και από

αρκετή βιβλιογραφία δίνουμε ένα γενικό πλάνο της χρήσης των αντιβιοτικών. Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η εργασία αυτή περιλαμβάνει τα βασικά στοιχεία και τούτο γιατί το πλήθος των γνώσεων που υπάρχουν σήμερα γύρω από το θέμα είναι μεγάλο, μιας και η άντληση στοιχείων είναι πολύ δύσκολη.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όταν οι υδρόβιοι οργανισμοί εκτρέφονται εντατικά, οι ασθένειες, οι οποίες συνήθως παρουσιάζονται στους άγριους πληθυσμούς, γίνονται περισσότερο έκδηλες στο περιορισμένο περιβάλλον του χώρου εκτροφής. Οι εντάσεις, που σχετίζονται με τις καλλιεργητικές λειτουργίες, συνδυάζονται με έτοιμη μετάδοση της μολυσματικής ασθένειας σε πυκνά αποθηκευμένους πληθυσμούς, με αποτέλεσμα να δημιουργεί μια κατάσταση κατά την οποία ο παθογενής οργανισμός να υπερτερεί του ξενιστή. Δεδομένου του γεγονότος ότι το νερό είναι ένα μέσο ιδιαίτερα αρμόζον για την μετάδοση των παθογενών μικροοργανισμών, η μολυσματική ασθένεια είναι αναπόφευκτα ένας μείζονος παράγοντας στην επιτυχία οποιασδήποτε ιχθυοκαλλιεργητικής δραστηριότητας.

Οι παράγοντες στο περιβάλλον του χώρου καλλιέργειας, που συνδυάζονται για να ευνοήσουν την ασθένεια είναι επίσης παράγοντες που στρατεύονται ενάντια στον εύκολο έλεγχο της ασθένειας. Εκεί όπου ένα θηλαστικό (μια αγελάδα ή ένα πρόβατο) είναι μια πολύτιμη μονάδα των ζώων που ανατρέφονται με σκοπό το κέρδος, η οποία μπορεί να επιφέρει μια σημαντική μεταστροφή από την ατομική φροντίδα και θεραπεία, κάθε ψάρι (εκτός του διακοσμητικού εμπορίου και της περιορισμένης περίπτωσης του πολύτιμου επωασμένου στελέχους) είναι κάποιας σχετικά περιορισμένης αξίας και για αυτό δεν μπορεί να θεραπευτεί κατά μονάδα εφόσον μάλιστα η εργασία, που έχει επενδυθεί σε αυτόν τον ατομικό χειρισμό θα υπερέβαινε την αξία της μονάδας.

Το υδρόβιο περιβάλλον είναι αρμόζον να μεγεθύνει την θεραπεία του ψαριού μέσω θεραπείας του περιβάλλοντος νερού, άλλα και οι τεράστιοι όγκοι που το αφορούν, σημαίνει ότι μόνο χαμηλού κόστους μείγματα μπορούν να εφαρμοστούν. Πιο ακριβά μείγματα πρέπει να προμηθεύονται απ' ευθείας στο κάθε ψάρι και στο υδρόβιο περιβάλλον η ιατρικά προσεγμένη τροφή είναι η πραγματικά μοναδική κατορθωτή πορεία. Και οι δυο μέθοδοι θεραπείας εγκυμονούν ένα σημαντικό ρίσκο να παραχθεί ένα μολυσμένο παράγωγο, μια κατάσταση που καθώς περνά ο καιρός γίνεται όλο και λιγότερο αποδεκτή. Η συνεχής, αναπόφευκτη διαδικασία των αυξανόμενων ελέγχων

πάνω στη χρήση των χημειοθεραπευτικών μέσων στην ιχθυοκαλλιέργεια επιταχύνεται, καθώς η δημόσια ενημέρωση πάνω στις δυνητικές επιδράσεις της περιβαλλοντικής μόλυνσης και των φαρμακευτικών υπολοίπων στην τροφή αυξάνεται. Αυτή διαδικασία του να στενεύεις κανονικούς έλεγχους είναι ίσως περισσότερο έκδηλη στις ΗΠΑ (Belean 1986, Schnick, Meyer & Walsh 1986).

Ανάμεσα σε ένα πλήθος αναθεωρήσεων απόψεων πάνω στην χρήση φαρμάκων στην ιχθυοκαλλιέργεια, οι πιο χρήσιμες είναι του Rucker 1972 Herman & Bullock 1986, οι οποίες περισσότερο επικεντρώνονται στα προβλήματα και πιο γενικά στις ασθένειες των ψαριών, όπως του Roberts 1978 & Post το 1983, τα οποία περιέχουν λεπτομερείς θεραπευτικές απόψεις πάνω στην χημειοθεραπεία που εφαρμόζεται.

Τελικά, μια σειρά από έγγραφα, έρευνες, και εξετάσεις που εκδόθηκαν πρόσφατα (Allen & Hunn 1986; Guarino & Lech 1986; James 1986), παρέχουν μια καλή ανασκόπηση προσφάτων εξελίξεων στις ΗΠΑ σε γνώση της διάθεσης, μεταβολισμού, και τοξικότητας των φάρμακων και των ξενοβιοτικών στα ψάρια.

Το αντικείμενο αυτής της επιθεώρησης είναι, να εξεταστούν σε βάθος οι διαθέσιμες πληροφορίες για τα φάρμακα και τα χημικά, που χρησιμοποιούνται στην ιχθυοκαλλιέργεια. Στο περιβάλλον, το πρόβλημα ήταν να βρεθούν φάρμακα που είναι δραστικά, κατέχουν μια καλή διαφοροποίηση τοξικότητας μεταξύ ξενιστή και παθογενή και είναι οικονομικά για τον έλεγχο των κυριότερων ασθενειών των ψαριών. Σήμερα παρόλο που φάρμακα είναι διαθέσιμα για τέτοιες ασθένειες, τα προβλήματα με μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στα φάρμακα αυξάνονται και σε πολλά κράτη κάποια φάρμακα μπορεί να πάψουν να διατίθενται, καθώς υπάρχουν κανονισμοί που περιορίζουν τα φαρμακευτικά υπόλοιπα στα ψαριά προς ανθρώπινη κατανάλωση (κανονισμός Ε.Ο.Φ.)

3. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η προγενέστερη χρήση χημικών στην ιχθυοκαλλιέργεια περιελάμβανε προσπάθειες ελέγχου των εξωπαρασίτων με αλάτι. Το 1909 ο Leger εισήγαγε την χρήση της φορμόλης στην θεραπεία μολύνσεων Costia οι οποίες δεν εξουδετερώνονταν με διαλύματα αλατιού. Αρχικά χρησιμοποιημένη σαν θεραπεία διαλείμματος, μακροπρόθεσμα οι θεραπείες έκχυσης φορμόλης έγιναν γνωστές στις δεκαετίες του '20 και του '30 από εργάτες στις ΗΠΑ (Hess 1930; Kingsbury & Embury 1932), οι οποίοι βρήκαν τέτοιου είδους θεραπείες αποτελεσματικές, τόσο ενάντια στα εξωπαρασιτικά πρωτόζωα όσο και στην εξουδετέρωση της προσβολής από τον Γυροδάκτυλο και τον Δακτυλόγυρο.

Μέχρι στιγμής, δοκιμάσθηκε και έγινε γνωστό ένα φάσμα από άλλα απλά τοπικά απολυμαντικά συμπεριλαμβανόμενων του θειικού άλατος, χαλκού και υπερμαγγανικού καλίου με πράσινο του μαλαχίτη ακολουθούμενο αμέσως μετά τον έλεγχο των μυκητιασικών μολύνσεων (Foster & Woodbury 1936). Με την γνωστοποίηση τα πρώτα χρόνια της δεκαετίας του '40 των μειγμάτων του τετραγενούς αμμωνίου στις ΗΠΑ για τον έλεγχο της βακτηριακής ασθένειας του βραγχίου (Rucker, 1972), το φάσμα των φτηνών χημικών για τις τοπικές θεραπείες που ακόμα χρησιμοποιούνται κανονικά στις αλιείες ολοκληρώθηκε.

Δυσκολίες στην επίτευξη πυκνών ποσοτήτων μειγμάτων τετραγενούς αμμωνίου τέτοιων όπως το Roccal για την τοπική εφαρμογή (Rucker, Johnson and Ordal, 1949), οδήγησαν στις ΗΠΑ στην εξερεύνηση ενός πράγματος, το οποίο τώρα μπορεί να θεωρηθεί σαν λανθασμένη στροφή στην εξέλιξη της χημειοθεραπείας στις μονάδες εκτροφής. Αυτό ήταν η εισαγωγή του μείγματος του υδράργυρου, οξικό άλας του πυριτικού υδράργυρου για τον έλεγχο της βακτηριακής ασθένειας του βραγχίου. Παρόλο που καταγράφηκε μια δεκαπλάσια διαφοροποίηση τοξικότητας (Van Hoorn and Katzn, 1946, Rucker, 1948), οι ποσότητες των αποβλήτων ήταν πάλι το πρόβλημα. Ένα άλλο υδραργυρικό, που επίσης εξετάστηκε ήταν το Lignasan (ενεργό συστατικό αιθυλικού φωσφορικού άλατος του υδράργυρου) (Burrows and Palmer, 1949), αλλά αυτό δεν έδειξε μια επαρκή διαφοροποίηση της τοξικότητας.

Εν όψη τρεχόντων στάσεων απέναντι στους κινδύνους από τα υδραργυρικά μείγματα στο περιβάλλον, η χρήση των μειγμάτων υδράργυρου, δε θα ήταν σήμερα για την θεραπεία κανενός ψαριού πόσο μάλλον ειδών ψαριών που προορίζονται για τροφή. Το γεγονός ότι το P.M.A. (οξικό άλας του πυριτικού υδράργυρου) δεν θα μπορούσε να καταχωρηθεί ως θεραπευτικό τελικά οδήγησε στην εγκατάλειψη της χρήσης (Rucker and Amend, 1969). Αυτό βοηθήθηκε από τη διαθεσιμότητα επιπρόσθετων μειγμάτων τετραγενούς αμμωνίου από το Hyamine 3500 (Hogan 1969).

Οι πρώτες προσπάθειες να ελεγχθούν οι βακτηριακές μολύνσεις έγιναν δυνατές με την εξέλιξη των συστημάτων αντιμικροβιακών παραγόντων στα τέλη της δεκαετίας του '30. Αρχικές δοκιμές σουλφαμίδων ολοκληρώθηκαν στις ΗΠΑ και όπως φαίνεται ήταν μάλλον εμπειρικές (Litchfield, 1939, Wolf 1939), ενώ το μείγμα που δοκιμάστηκε, η σουλφανλαμίδη, αποδείχτηκε τοξικό. Ο Gotsell (1948) ανακάλυψε ότι η σουλφαμιραζίνη ήταν πολύ λιγότερο τοξική και σύντομα έγινε γνωστή για τον έλεγχο της δοθιήνωσης στις ΗΠΑ. Βασική λειτουργία των σουλφοναμίδων είναι η αναστολή του μεταβολισμού του φολινικού οξέως και η δράση της οποίας είναι ικανή συντελεί μεσώ ενός δευτέρου αναστολέα φολινικού οξέος που λειτουργεί ενάντια σε ένα διαφορετικό μέρος της διόδου.

Η χρήση των δυνατών σουλφοναμίδων γενικεύτηκε στις αρχές της δεκαετίας του '70 και σύντομα εισήχθησαν στην ιχθυοκαλλιέργεια στην Ευρώπη (McCarthy, Stevenson and Salsbury, 1974 a,b,c) μετά από μια μελέτη των πιο δραστικών συνδυασμών για τον έλεγχο της δοθιήνωσης. Μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '80 δεν έγιναν έρευνες πάνω στις δυνατές σουλφοναμίδες στα πλαίσια της αλιευτικής χρήσης στις ΗΠΑ και μόνο η πρώτη Romet 30 καταχωρήθηκε το 1985.

Ο Gutsell (1946) ήταν επίσης υπεύθυνος για την πρώτη χρήση μείγματος νιτροφουρανών για τον έλεγχο της δοθιήνωσης. Το πρώτο μείγμα η νιτροφουραζόνη, ενώ φαινομενικά είχε επίδραση, στην πράξη υστερούσε και οι έρευνες αργότερα επικεντρώθηκαν στην φουραζολιδόνη (Post 1959, Heaton and Post 1968), η χρήση της οποίας «υιοθετήθηκε» από τότε αρκετά εκτενώς. Στην Ιαπωνία, μια νέα νιτροφουράνη, η νιφουροπιρινόλη (P-7138) εξελίχτηκε ειδικά για αλιευτική χρήση (Shimizu και Taske, 1967) και στις ΗΠΑ ανακαλύφθηκε ότι ήταν δραστική και μη

τοξική για τον έλεγχο των μυξοβακτηριδιακών ασθενειών. Παρά τις εκτενείς έρευνες και τα σχόλια γεμάτα ενθουσιασμό: “Το μέλλον μας σε ότι αφορά τον έλεγχο αυτών των συντριπτικών ασθενειών έγκειται στην επίτευξη καθαρότητας FDA για φουρανάση” (Rucker 1972), η νιφουροπιρινόλη δεν κατόρθωσε μια ευρεία αποδοχή.

Περισσότερο σαν αντιβιοτικά παρά σαν αντιμικροβιολογικά (μείγματα βιολογικής φύσεως, παρά συνθετικής καταγωγής) έγιναν διαθέσιμα για ανθρώπινα και κτηνιατρικά φάρμακα και πολλά εξετάστηκαν για προοπτική αλιευτικής χρήσης. Η γρήγορη εξέλιξη της ποικιλίας των αντί-σουλφοναμιδικών των βακτηριακών παθογενών, το κατέστησαν πιο επείγον. Η αποτελεσματικότητα της χλωραμφενικόλης, ενάντια στις μολύνσεις της Αερομονάς και της Ψευδομονάς αναγνωρίστηκε από τον Smith στο 1950. Αυτό το αντιβιοτικό χρησιμοποιήθηκε από τότε αρκετά εκτενώς και συνεχίζει να χρησιμοποιείται σε αυτόν τον βαθμό ειδικότερα στην Ανατολική Ευρώπη. Τέτοια γενική χρήση αυτού του αντιβιοτικού αποθαρρύνεται έντονα στο Ηνωμένο Βασίλειο, επειδή η τοξικότητα του και η αξία του στις ιατρικές απολήξεις (π.χ. τυφοειδής), σημαίνει πως δεν θα έπρεπε να επιτρέπεται καμία χρήση, η οποία μπορεί να βοηθήσει την εξέλιξη της ποικιλίας των αντί-χλωραμφενικολικών βακτηριδιακών. Όπως και να έχει η χρήση του πολλές φορές ανιχνεύεται σε διακοσμητικό ψάρι κρύου νερού.

Παράλληλα με αυτές πάνω στην χλωραμφενικόλη, έρευνες έδειξαν ότι οι τετρακυλίνες, ειδικότερα οι οξυτετρακυκλίνες ήταν επίσης δραστικές σε υψηλό βαθμό ενάντια στους gram- παθογενείς (Snieszko, Friddle και Griffen 1952). Η οξυτετρακυκλίνη σύντομα έγινε το «αγαπημένο» φάρμακο για τις περισσότερες βακτηριακές ασθένειες ψαριών στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ.

Στην Ιαπωνία, μια γρήγορα εξελισσόμενη βιομηχανία ιχθυοκαλλιέργειας κατά την διάρκεια των τελευταίων 30 χρόνων αντιμετώπισε επίσης τα αναπόφευκτα προβλήματα της βακτηριακής ασθένειας, σαν πόρισμα μιας σειράς ερευνών πάνω στους θεραπευτές. Για το περισσότερο μέρος οι ίδιοι αντιμικροβιολογικοί και αντιβιοτικοί συντελεστές εξετάστηκαν τόσο στην Ευρώπη, όσο και στις ΗΠΑ, συμπεριλαμβανομένων όμως και μερικών περισσότερο εξελιγμένων μειγμάτων. Ειδικότερα οι τετρακβινολόνες, αντιπροσωπευμένες από πυρομιδικα και οξολινικά

οξέα, ανακαλύφθηκαν ότι ήταν δραστικά σε υψηλό βαθμό ενάντια στις gram-παθογένειες των ψαριών (Endo, Ogishima, Hayasaka, Kaneko και Oshima 1973). Οι προοπτικές των τετρακβινολόνων αναγνωρίστηκαν μεταγενέστερα στην Ευρώπη, όταν το οξολινικό οξύ εγκρίθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο και η φλουμεκβίνη έγινε γνωστή στην Γαλλία. Πάντως καμιά τετρακβινολόνη δεν εισήχθηκε ακόμη στις ΗΠΑ. Μερικώς τουλάχιστον, αυτό είναι το αποτέλεσμα της αύξησης των κτηνιατρικών φαρμάκων, η οποία επιβάλλει έξοδα, καθόλου ευκαταφρόνητα, στην εξέλιξη και στην κατοχύρωση.

4. ANTIBIOTIKA ΚΑΙ ANTIMIKPOBIAKA

4.1. ΣΟΥΛΦΟΝΑΜΙΔΕΣ

4.1.1 Δομή και τρόπος δράσης

Η πρώτη σουλφοναμίδα, η σουλφαναμίδα, δοκιμαζόταν σε ψάρι (Tunison και McCay 1937) μέσα σε δυο χρόνια από τις πρώτες μεγάλες, ελεγχόμενες κλινικές εφαρμογές στους ανθρώπους (Colebrook και Kenny 1936). Οι σουλφοναμίδες είναι ανταγωνιστές της βιοσύνθεσης του δι-υδροφολικού οξέος, καθώς ανταγωνίζονται με τον φυσικό μεταβολίτη Π-αμινοβενζοΐκό οξύ. Τα ευαίσθητα βακτήρια είναι ανίκανα να απορροφήσουν το δι-υδροφολικό οξύ. Η δύναμη της δράσης της σουλφαναμίδας με τρόπους συνεχούς παρεμπόδισης της δι-υδροφολάτης μείωσης σε 2.4-διαρινυπιριμιδίνες (π.χ. τριμεδροπίνη) είναι μεγάλης αξίας, όχι απλώς εξ αιτίας του αποτελέσματος που είναι ένας ανώτερος πίνακας θεραπειών, αλλά και επειδή η βακτηριακή αντοχή στον διπλό αποκλεισμό εξελίσσεται λιγότερο εύκολα. Τα μικροβιακά στελέχη των Αερομονάδων των Σαλμονειδών που είναι ανθεκτικά στις σουλφαναμίδες αναγνωρίστηκαν καθώς αποτελούσαν ένα σοβαρό πρόβλημα για τον έλεγχο της δοθιήνωσης στις ΗΠΑ μέσα σε δέκα χρόνια από το ξεκίνημα της κανονικής χρήσης της σουλφαμεραζίνης στην Αμερικανική ιχθυοκαλλιέργεια (Snieszko και Bullock 1957) και παρόμοιες δυσκολίες καταγράφηκαν στην Ευρώπη και στην Ιαπωνία. Εφόσον όλες οι σουλφοναμίδες έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης τα βακτήρια που αναπτύσσουν αντοχή σε μια σουλφαναμίδα, κανονικά θα είναι ανθεκτικά σε όλες τις σουλφαναμίδες. Δομές των κυρίων σουλφαναμιδών, που έχουν χρησιμοποιηθεί στην ιχθυοκαλλιέργεια μπορεί να δει κανείς στο σχήμα 1.1.

4.1.2 Χρήση και τοξικότητα

Αρχικά, οι σουλφοναμίδες εισήχθηκαν στην αλιευτική χρήση στις ΗΠΑ χάρη στην αποτελεσματικότητά τους ενάντια στα gram- βακτήρια, όπως η *Aeromonas salmonicida*, ο αιτιολογικός συντελεστής υπεύθυνος για την δοθιήνωση. Η σουλφαμεραζίνη, που χορηγείτο στοματικά στην καφέ πέστροφα και στην πέστροφα των ποταμών στα 200mg/kg του βάρους του σώματος του ψαριού ανά ημέρα

αποδείχθηκε αποτελεσματική στον έλεγχο της δοθιήνωσης (Snieszko & Bullock, 1957) χωρίς σημαντική τοξικότητα στον ξενιστή, όπου μια παρόμοια θεραπευτική αγωγή σουλφαδιαζίνης αποδείχθηκε τοξική, ιδιαίτερα στην καφέ πέστροφα. Σε ότι αφορά την βακτηρίαση νεφρική ασθένεια, οι Snieszko και Griffen το 1955 βρήκαν την θεραπεία της σουλφαμεραζίνης εξίσου αποτελεσματική και με λιγότερες βλαβερές επιπτώσεις στην ανάπτυξη της πέστροφας των ποταμών εν θεραπεία. Ο Allison το 1958 πειραματίστηκε εκτενέστερα με τη δυνατότητα της πολλαπλής θεραπείας με σουλφαναμίδα της βακτηριακής νεφρικής ασθένειας, ανακαλύπτοντας ότι η σουλφαμεραζίνη η σουλφαγκουανιδίνη και η σουλφαδιαζίνη, η κάθε μια ξεχωριστά ή σε ποικίλους συνδυασμούς στα 250mg/κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα, ήταν εξίσου αποτελεσματικές.

Μεταγενέστερες μελέτες πάνω στον έλεγχο της δοθιήνωσης με άλλες σουλφαναμίδες έδειξαν ότι η σουλφισοξαζόλη και η σουλφαδιμεθοξίνη, μπορούσαν να επιφέρουν αποτελέσματα (Amend και Fryer, 1968) εάν τουλάχιστον γινόταν χορήγηση μέσω ενδοπεριτοναϊκής ένεσης. Αυτή η μελέτη ολοκληρώθηκε στον σολομό, που προηγουμένως γυμνώθηκε και η σουλφαδιμεθοξίνη παρατηρήθηκε να παράγει συσσωματώματα σε θέσεις ενδομυϊκής ένεσης. Η σουλφαμεθαζίνη και η σουλφαμεθοξυπυριδαζίνη ήταν τοξικές, σε δόσεις υπερβαίνουσες τα 100mg/κιλό σωματικού βάρους ενδοπεριτοναϊκώς. Σε μια εκτενέστερη συγκριτική μελέτη οι Amend, Fryer και Pilcher το 1969 ανακάλυψαν ότι η σουλφισοξαζόλη ήταν καλύτερα αποδεκτή και γρηγορότερα από τη δίαιτα στα 110 και 220mg/κιλό σωματικό βάρους ανά ημέρα από το νεαρό *chinook salmon* από ότι ήταν η σουλφαδιμιδίνη (=σουλφαμεθαζίνη) και στις *in vitro* μελέτες ήταν πιο ενεργή ενάντια στην *A. Salmonicida*, *Cytophaga psychrophila*. Η σουλφαδιμεθοξίνη αν και ανώτερη της σουλφαδιμιδίνης, αποδείχτηκε λιγότερο εύκολα αποδεκτή από το ψάρι και λιγότερο ενεργή από την σουλφοξαζόλη. Παρά αυτές τις εκτενείς έρευνες στις ΗΠΑ, η σουλφαμεραζίνη ήταν ακόμα η μόνη (μη δυνατή) σουλφαναμίδα εγκεκριμένη από την επιτροπή Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών για χρήση στα ψάρια και τότε εγκεκριμένη μόνο για την θεραπεία της δοθιήνωσης των εκκολαπτόμενων Σολόμων (Herman, 1970).

Οι δημοσιευμένες πληροφορίες για τις τοξικές επιδράσεις των σουλφοναμίδων στα ψάρια κατά τα θεραπευτικά στάδια, είναι λογικά περιορισμένα. Παρόλο που τα ψάρια είναι ικανά να αξιοποιήσουν το διαθέσιμο δι-υδροφολικό οξύ, αναστολή της σύνθεσης του δι-υδροφολικού οξέος μπορεί να έχει μια αξιοσημείωτη επίδραση στην ανάπτυξη των μικρών έντονα αναπτυσσομένων οργανισμών. Έχει σημειωθεί μειωμένη ανάπτυξη σε πέστροφα κατά την θεραπεία της με σουλφοναμίδα (Gutsell & Snieszko, 1949; Snieszko Wood, 1955). Στειρότητα, νεφρική βλάβη και θνησιμότητες έχουν αναφερθεί για τα σολομοειδή που θεραπεύτηκαν με σουλφαμεθαζίνη (Johnson & Brice, 1953; Wood, Yasutake & Snieszko, 1955; Wood, Yasutake & Johnson, 1957) παρόλο που ο Wood et al. το 1957 προσπάθησε ανεπιτυχώς να αναπαράγει πειραματικά τέτοιες θνησιμότητες. Σε μια αρχική προσπάθεια ο chinook salmon εφοδιασμένος με 220mg/κιλο σωματικού βάρους σουλφαδιμιδίνη έζησε την εμπειρία των θνησιμοτήτων τρεις φορές περισσότερο σε σύγκριση με ένα παρόμοιο κοπάδι που θεραπευτικέ, με μια παρόμοια αγωγή σουλφαμεραζίνης. Ετοιμοθάνατο ψάρι παρουσίασε πρησμένο στομάχι, έκδηλη στένωση του εντέρου που βρίσκεται πριν από το γαστρικό τυφλό έντερο και κρύσταλλοι σουλφοναμίδας βρίσκονταν στο νεφρό. Περαιτέρω προσπάθειες χρησιμοποιώντας δίαιτες, που περιείχαν μέχρι και 15.4gr σουλφαδιμιδίνης/κιλο σωματικού βάρους ανά ημέρα, απέτυχαν στο να περιορίσουν είτε την κρυσταλουργία, είτε την θνησιμότητα παρόλο που καταγράφηκαν πρησμένα στομάχια και στενώσεις εντέρων που βρίσκονται πριν των γαστρικών τυφλών εντέρων και τα ψάρια συνήθως αρνούνταν να φάνε μετά από τις 24 ώρες σε συγκεντρώσεις άνω των 6.6 gr / kg.

Πιο πρόσφατα, οι Kabota, Kojima & Ishida το 1970 ανέφεραν το συμβάν των σπονδυλικών θραύσεων στα ψάρια *yellowtail* που θεραπεύτηκαν με σουλφισομιδίνη και ένα ιδιοσκευασματικό διαιτητικό συμπλήρωμα των 'βοήθεια hamachi'. Τα πειράματα έδειξαν ότι οι σπονδυλικές θραύσεις οφείλονταν σε σύντομες άλλα βίαιες, σπασμωδικές εφαρμογές (κάτι που μπορεί να προκληθεί από το ηλεκτροσόκ στα ψάρια) συσχετιζόμενες με υπερβολικές δόσεις σουλφισομιδίνης, όπου η κολλώδης συμπληρωματική τροφή "βοήθεια hamachi" εμπόδιζε της σουλφοναμίδη να

αποβάλει το φαγητό και έτσι είχε σαν αποτέλεσμα αναρρόφηση μεγαλύτερη από την κανονική.

Μέχρι το 1971, οι Poroff & Davine βρήκαν την αντοχή στην σουλφοναμίδη σε όλα τα 104 Αμερικανικά γένη της *A. Salmonicida* που εξέτασαν. Η δονητική τριμεθοπρίμη της θεραπείας με σουλφοναμίδη είχε εισαχθεί πρόσφατα με επιτυχία στην ιατρική και κτηνιατρική (Garrod, 1969; Kamat, 1970; McCaig, 1970) και οι ερευνητές της αλιείας σύντομα θα εξέταζαν δυνατές εφαρμογές. Στις ΗΠΑ οι Bullock, Stuckney, Collis, Herman και Maestroni το 1973 ερεύνησαν το Ro5-0037, το οποίο αποτελείται από μείγμα σουλφαδιμεθοξίνης και τριμεθοπρίμης σε αναλογία 5:1 και ανακάλυψαν μια δραστική θεραπευτική αγωγή για την δοθιήνωση της πέστροφας σε δοσολογία 50 mg / κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα για 14 ημέρες. Αυτό παρουσίασε μια τετραμερή δυναμική ενέργεια σε σύγκριση με την συνηθισμένη θεραπευτική αγωγή της σουλφοναμίδης σε δοσολογία 200mg/ κιλό για 14 ημέρες.

Μια δόκιμη του Ro5-0037 σε δοσολογία 500mg/ κιλό για 14 ημέρες δεν απέφερε κανένα ανιχνεύσιμο σύνολο ή ιστολογικό-τοξικές επιδράσεις στην πέστροφα. Το 1981 η "Post" δημοσίευσε τα αποτελέσματα μιας ερευνάς πάνω στα πιθανά φάρμακα για τον έλεγχο της εντερικής ασθένειας "Red mouth" στην πέστροφα, η οποία προκαλείται από το gram- βακτήριο "*Yersinia ruckeri*". Ανακάλυψε ότι η καμουλίνη και ο συνδυασμός σουλφαδιαζίνης και τριμεθοπρίμης Tribriksen (Wellcome) ήταν τα πιο αποτελεσματικά και ανέδειξε ότι ήταν επείγον να εγκριθεί το ένα ή το άλλο για την αλιευτική χρήση.

Παρά τα αποτελέσματα αυτά δεν καταχωρήθηκε καμιά δυναμική ενέργεια σουλφοναμίδης για αλιευτική χρήση στις ΗΠΑ μέχρι το 1985, όταν ο συνδυασμός σουλφαδιμεθοξίνης, τριμεθοπρίμης, Romet 30 (Roche) επιτέλους περιήλθε σε διαθεσιμότητα για τον έλεγχο της δοθιήνωσης στην πέστροφα και τον σολομό με όντως ενδεικνύομενη δράση ενάντια στην *Aeromonas hydrophila*, *C. psychophila*, *Chondrococcus columnaris*, *Vibrio anguillarum* *Y. ruckeri*.

Στο Ηνωμένο Βασίλειο ο McCarthy et al. το 1974 a.b.c διεξήγε μια σειρά ερευνών πάνω στην αποτελεσματικότητα διαφορετικών σουλφοναμίδων σε συνδυασμό με την τριμεθοπρίμη ούτως ώστε να συλλέξει τους ως επί το πλείστον αρμόζοντες και

αποτελεσματικούς συγκερασμούς. Εξετάστηκαν επτά σουλφοναμίδες: η σουλφαδιαζίνη, η σουλφαναμιδίδη, η σουλφαδιμιδίδη, η σουλφαμεραζίνη, η σουλφαθιαζόλη, η σουλφαμεθοξυπριδαζίνη και η σουλφαμεθυλφενναζόλη. Φαινομενικά μικρή διάφορα αναγνωρίστηκε στην αντιβακτηριακή δραστηριότητα αλλά η σουλφαμεθυλφενναζόλη βρέθηκε να είναι πιο φαρμακοκινητικά ταιριαστός συνδυασμός με την τριμεθοπρίνη. Παρά αυτές τις εν βάθος έρευνες, η μόνη δυναμικά ενεργητική σουλφοναμίδα που εγκρίθηκε με άδεια στο Ηνωμένο Βασίλειο για αλιευτική χρήση ήταν ο συνδυασμός σουλφαδιαζίνης-τριμεθοπρίνης-co-τριμοξαζόλης (Tribrissen, Wellcome) που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της δοθιήνωσης.

Αν και οι δημοσιευμένες πληροφορίες πάνω στην εισαγωγή σουλφοναμίδων και των δυναμικών σουλφοναμίδων για ιχθυοκαλλιεργητική χρήση είναι ίσως τα πλείστα ολοκληρωμένα για τις ΗΠΑ και το Ηνωμένο Βασίλειο, άλλα ιχθυοκαλλιεργητικά κράτη όπως η Ιαπωνία, η Νορβηγία και η Σουηδία ακολούθησαν λίγο - πολύ τα ίδια χνάρια εξέλιξης. Αυτό ενδεικνύεται ίσως κάλλιστα από τις μελέτες των υπολειμμάτων που υπολογίζονται παρακάτω.

4.1.3 Φαρμακοκινητικές και υπολειμματικές μελέτες

Ο μεγάλος αριθμός διαφορετικών σουλφοναμίδων που έχουν εξεταστεί με ψάρι, παρουσιάζει επιπρόσθετες περίπλοκες στην ερμηνεία των διαθέσιμων πληροφοριών πάνω στα φαρμακοκινητικά σουλφοναμίδων στα ψάρια, αφού οι σουλφοναμίδες διαφέρουν στα χαρακτηριστικά απορρόφησης και έκκρισης (Πίνακας 1.1) και είναι αυτά που σε μεγάλο βαθμό καθορίζουν την απόδοση τους ζωντανά. Οι χαρακτήρες που ξεχωρίζουν στον πίνακα 1.1 προήλθαν από απόδοση σε ανθρώπινα φάρμακα και δεν θα ισχύουν απαραίτητα στα ψάρια, αλλά οι περισσότερες αλιευτικές σουλφοναμίδες προσπίπτουν σε αναλογία ταχείας απορρόφησης και αναλογία ομαδοποίησης μέτριας έκκρισης. (Πίνακας 1.1)

Αρχικές μελέτες πάνω στην ανάληψη της σουλφαμεραζίνης ολοκληρώθηκαν στην πέστροφα από τους Snieszko και Friddle το 1950-1951, οι οποίοι απέδειξαν ταχεία απορρόφηση ακολουθούμενη από μια εξίσου ταχεία πτώση σε πυκνώσεις ιστού όταν

το φάρμακο απομακρύνθηκε από την δίαιτα, αλλά δεν συνέχισαν τις έρευνες τους πολύ περαιτέρω τους σημείου στο οποίο οι πυκνώσεις της σουλφαμεραζίνης έπεσαν κάτω από τα ελάχιστα θεραπευτικά στάδια. Χρησιμοποιώντας την σχετικά ανεπηρέαστη Bratton και Marshall (1939) κολομετρική μέθοδο για την ανίχνευση της σουλφοναμίδης, οι Dalgaard- Mikkelsen και Rasmussen το 1964, εξέτασαν την εξάλειψη της σουλφαμεραζίνης από τον μυ και το συκώτι της ιριδίζουσας πέστροφας.

Ολοκληρώθηκαν πειράματα χωρίς τον έλεγχο της θερμοκρασίας του νερού και περιορισμών της μεθόδου και το μικρό μέγεθος δείγματος. (Δυο ψάρια ανά δειγματικό χρόνο) περιόρισε την σημασία των συμπερασμάτων. Το όριο της ανίχνευσης της σουλφαμεραζίνης στον μυ μετά την λήξη της φαρμακευτικής αγωγής πλησίασε στις 12 μέρες κατόπιν θεραπείας σε θερμοκρασίες νερού γύρω στους 15°C και στις 18 ημέρες σε θερμοκρασία γύρω στους 6°C. Στο συκώτι στους 15°C το όριο της επίρειας στις 24 ημέρες, την στιγμή που στους 6°C σεβαστές ποσότητες σουλφαμεραζίνης ήταν ακόμη παρούσες στα τελευταία δείγματα που πάρθηκαν σε 30 ημέρες. Συγκεκριμένα στο συκώτι κατά το ήμισυ η σουλφαμεραζίνη που ανιχνεύτηκε σε χαμηλότερη θερμοκρασία νερού, ήταν σε μορφή ακετυλενίου. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι η εξαλείψει της σουλφαμεραζίνης ήταν ανεξάρτητη της θερμοκρασίας του νερού, αλλά αυτό δεν υποστηρίζεται πλήρως από τα αποτελέσματα των πειραμάτων τους.

Οι Herman και Degurse το 1967 χρησιμοποιώντας πολύ περισσότερο ευαίσθητες τροποποιήσεις της Bratton και Marshall τεχνικής (Goth, 1942; Mooney & Pasarella, 1964) με μια πλήρη εκτίμηση της μεθοδολογίας, ολοκλήρωσαν μια εκτενή έρευνα της εξάλειψης της σουλφαμεραζίνης από τρία είδη πέστροφας σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Σε κάθε δείγμα συμπεριλαμβανόταν τρία ψάρια (σχ.1, 2, 3) αλλά δυστυχώς τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε μια μάλλον συντομευμένη μορφή. Και τα τρία είδη παρουσίασαν ένα παρόμοιο τρόπο έκκρισης της σουλφαμεραζίνης με μια φάση ταχείας κατόπιν διανομής εξάλειψης πλησιάζοντας ένα πλάττω σε περίπου 14 ημέρες. Μόνο με την καφέ πέστροφα υπήρξαν ενδείξεις επίδρασης της θερμοκρασίας με σημειωμένη μείωση στην αναλογία της εξάλειψης στους 7.7°C σε σύγκριση με τους 12°C, αλλά η διαφορά μεγέθους ανάμεσα στις δυο αυτές ομάδες θερμοκρασίας ίσως επίσης να ήταν συντελεστής.

Οι Herman και Degurse το 1967 συμπεραίνουν ότι τα υπολείμματα σουλφαμεραζίνης πλησιάζουν το μηδέν στις 20-30 ημέρες μετά την απόσυρση, στην πέστροφα του ποταμού στις 30-40 ημέρες και στην καφέ πέστροφα στις 20-40 ημέρες. Μέγιστες πυκνώσεις σουλφαμιριζίνης ανιχνεύθηκαν στο συκώτι, όπου σημαντικές αναλογίες είχαν ακετυλτηνοποιηθεί, ιδίως στην πέστροφα του ποταμού με λιγότερες ποσότητες στο συκώτι στο αίμα και στο μυ. Η ακετυλτηνοποιημένη μεταβλητότητα της σουλφαμεραζίνης δεν κατέχει σημαντική αντιβακτηριδιακή δράση (Patel και Welling, 1980).

Τα υπολείμματα της σουλφαναμίδης στην πέστροφα έχουν προσελκύσει υπολογίσιμο ενδιαφέρον στην Σκανδιναβία και ακολουθώντας την δουλειά στην Δανία από τους Dalgaard - Mikkelsen και Rasmussen το 1964 περαιτέρω έρευνες διεξήχθησαν στην Σουηδία από τους Silven, Johansson και Ljungberg το 1968, οι οποίοι απέδειξαν την πρακτικότητα του να χρησιμοποιείς μεθόδους βιολογικής ανίχνευσης για να καθορίσεις υπολείμματα σουλφαμεραζίνης στους ιστούς της πέστροφας, αλλά εκτός αυτού δεν πρόσθεσαν υλικά στην γνώση είτε της ανάληψης, είτε της έκκρισης της σουλφαναμίδης. Σε αντίθεση οι Bergstrom - Nielsen το 1969 ακολούθησαν τα πρώτα ίχνη προς μια πλήρως φαρμακοκινητική προσέγγιση στα αλιευτικά φάρμακα, παίρνοντας την σουλφαμιραζίνη σαν παράδειγμα επεκτείνοντας την σπουδαιότητα και των δυο, μιας πλήρους εκτιμήσεως της μεθόδου ανάκαμψης, που εφαρμοζόταν και ενός ικανοποιητικά μεγέθους δείγματος.

Το ενδιαφέρον σε μια ευρύτερη κλίμακα σουλφαναμιδών προς χρήση με την τριμεθοπρίμη σαν δύναμη οδήγησε τον McCarthy το 1974 να διεξάγει μια συγκριτική έρευνα των σταδίων της ανάληψης και της γρήγορης εξάλειψης επτά διαφορετικών σουλφαναμιδών στην ιριδιζουσα πέστροφα. Τα αποτελέσματα τους έδειξαν διάφορες στην απόδοση μεταξύ των διαφορετικών μειγμάτων (εικόνες 1.5 ,1.6) με την σουλφαμεθυφенаζόλη να προσφέρει μια εντυπωσιακά υψηλή αναλογία για απορρόφηση και μια ταχεία εξάλειψη από το αίμα, αφού σταμάτησε η θεραπεία. Η τριμεθοπρίμη βρέθηκε να μεταφέρεται γρήγορα από το αίμα στους ιστούς μέσα στις λίγες πρώτες ώρες της θεραπείας. Τα επίπεδα των νεφρών αυξήθηκαν μετά την λήξη της θεραπείας, ίσως ενδεικνύοντας μια οδό νεφρικής έκκρισης. Δείγματα

αποτελούμενα από μόνο τρία ψάρια σε κάθε δειγματιζόμενο χρόνο και η διάρκεια του πειράματος ήταν περιορισμένη στις 96 ώρες στους 13°C.

Σε μια έρευνα των υπολειμμάτων μιας κλίμακας από αντιμικροβιωτικούς συντελεστές σε μυ της ιριδιζουσας πέστροφας οι McCracken, Fidgean, O' Brien και Anderson το 1976, χρησιμοποιώντας μεθόδους βιολογικής ανίχνευσης, εξέτασαν την επίμονη της συνιστώσας τριμεθοπρίμης co-τριμεθοξαζόλης εφοδιασμένη στο ψάρι από ενδοπεριτονεϊακούς και στοματικούς οδούς. Το δειγματικό μέγεθος ήταν μικρό (δυο ψάρια ανά δείγμα) και η εκτίμηση της μεθόδου ήταν περιορισμένη σε παράλληλο σχεδιασμό των δειγμάτων έλεγχου. Το πείραμα τους ολοκληρώθηκε στους 5°C και η τριμεθοπρίμη ανιχνεύθηκε στα δείγματα του μυ στις 17 ημέρες κατόπιν της θεραπείας σε ψάρι που βρισκόταν σε θεραπευτική αγωγή ενδοπεριτονεϊκής ένεσης, για 34 ημέρες σε ψάρι ταϊσμένο ημερησίως με 300mg/kg σωματικού βάρους co-τριμοξαζόλης ανά ημέρα για 10 ημέρες και για 29 ημέρες σε ψάρι ταϊσμένο με της ίδια δόση σε μια ημέρα.

Οι συγγραφείς σχολίασαν ότι μια 80 - ήμερη περίοδος απόσυρσης της τριμεθοπρίμης μπορεί να είναι συμβουλευσιμη σε χειμερινές θερμοκρασίες, αλλά δεν αποπειράθηκαν να καθορίσουν την σημασία των υπολειμμάτων που είχαν ανιχνεύσει στα πλαίσια της πυκνώσης της τριμεθοπρίμης.

Η πρώτη αναφορά του πειραματικού καθορισμού των φαρμακοκινητικών της σουλφοναμίδης σε μη σολομοειδή προήλθε από την Ιαπωνία (Lee και Kou, 1978), όπου η απορρόφηση της σουλφανιμεθοξίνης από χέλια σε θεραπείες με μπάνιο ερευνούνται χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη Bratton - Marshall τεχνική. Οι συγγραφείς βρήκαν μια αύξηση της απορρόφησης της σουλφαμονομεθοξίνης από 35-51% με αύξηση στη θερμοκρασία μπάνιου από 10°C σε 35°C και αυξάνοντας τις πυκνώσεις μπάνιου παράχθηκε αυξημένη ανάληψη. Υψηλότερες πυκνώσεις βρέθηκαν σε συκώτι, σπλήνα και νεφρά με πολύ χαμηλότερες πυκνώσεις στον μυ. Όταν 1% NaCl προστέθηκε στο μπάνιο, η απορρόφηση της σουλφαμονομεθοξίνης αυξήθηκε και έως τα 44%.

Η διανομή της σουλφαδιαζίνης και της τριμεθοπρίμης σε διαφορετικά όργανα εξερευνήθηκε εκτενέστερα από τους Bergsjø, Nafstad και Ingebrigtsen το 1979

χρησιμοποιώντας ολόκληρες σωματικές τεχνικές αυτοραδιογραφίας. Στους 7°C μια μόνο δόση σουλφαδιαζίνης με ταμπέλα ^{35}S ανακαλύφθηκε για να διανεμηθεί αργά στους περισσότερους ιστούς. Υψηλότερη αρχική δραστηριότητα παρατηρήθηκε σε αίμα, συκώτι, νεφρό και δέρμα με μια τάση για συσσώρευση στην χολή και στο oveal tract του ματιού. Με την τριμεθοπρίμη και στους 7°C και στους 15°C εξελίχθηκε υψηλή δραστηριότητα σε συκώτι, σπλήνα, νεφρό, δέρμα και στο μάτι. Στις 72 ώρες στους 15°C, η δραστηριότητα συνέχισε να συσσωρεύεται στο δέρμα, μάτι, χολή και στην εντερική mucosa (το τελευταίο πιθανόν προερχόμενο από την χολή). Οι συγγραφείς ερμήνευσαν την υψηλή δραστηριότητα που ανιχνεύθηκε στην χολή και για τα δυο μείγματα σαν να ενδεικνύουν ότι ο σίγουρος δρόμος έκκρισης είναι ο χολικός.

Η αυξανόμενη απορρόφηση των σουλφοναμιδών από φαρμακευτικό μπάνιο με θαλασσινό νερό, που σημειώθηκε με τα χέλια από τους Lee και Kou το 1978 επίσης βρέθηκε εφαρμόσιμο στην τριμεθοπρίμη στην ιριδιζουσα πέστροφα σε μια σειρά από απόπειρες, που ολοκληρώθηκαν από τους Bergjo και Sognen το 1980 στις οποίες οι πυκνώσεις του πλάσματος των 1.0μg/ml προσεγγίστηκαν σε 10 ώρες σε μια προσαρμοσμένη ομάδα ιριδιζουσας πέστροφας αλμυρού νερού σε 24 ώρες, με 48 ώρες σε μια προσαρμοσμένη ομάδα μη αλμυρού νερού και καθόλου σε ομάδα φρέσκου νερού. Υψηλές πυκνώσεις συκωτιού καταγράφηκαν σε όλες τις ομάδες.

Χρησιμοποιώντας HPLC τεχνικές οι Borgan, Odegaard και Berjo το 1981 ερεύνησαν την ανάληψη από τα φαρμακευτικά μπάνια από σουλφοναμιδίνες στο αίμα και την επακόλουθη έκκριση στην ιριδιζουσα πέστροφα σε δυο θερμοκρασίες: 7°C και 14°C. Και οι δυο αναλογίες απορρόφησης και εξαλείψεις ήταν μέγιστες από 14°C με υπολογισμένες σταθερές αναλογίες περισσότερα από τις διπλές εκείνων στους 7°C. Ακετυλινοποιημένη σουλφοναμίδη ανιχνεύτηκε και αναγνωρίστηκε προσωρινά σαν N⁴-ακετυλοσουλφαδιμιδίνη. Μεγάλα ψάρια έως και ποικίλες ψαριών ανεβρέθηκαν, κάθε δείγμα αποτελούμενο από τέσσερα ψάρια.

Το αποτελέσματα εξετάστηκαν με τη χρήση ενός OECD μοντέλου υπολογιστή, το οποίο υπολογίζει τα πρώτης διάταξης κινητικά. Αυτό βρήκε ταιριαστά τα αποτελέσματα των 14°C. Οι συγγραφείς ένωσαν ότι φτωχότερος συγκερασμός των αποτελεσμάτων στους 7°C μπορεί να οφειλόταν εν μέρει τουλάχιστον σε ποικιλίες

στην θερμοκρασία νερού κατά την προσπάθεια εκείνη. Στα ποικιλόθερμα, στην διάδοση καθώς επίσης και ο μεταβολισμός αυξάνεται με την αυξανόμενη θερμοκρασία, οι συγγραφείς τονίζουν ότι τα αποτελέσματά τους δείχνοντας ένα διπλασιασμό των αναλογιών από τους 7°C στους 14°C, συμφωνούν αρκετά με τον κατά συχνότητα αποδεκτό παράγοντα της 10% μεταβολικής αύξησης ανά 1°C.

Μια περαιτέρω φαρμακοκινητική μελέτη της δυνητικής σουλφαναμίδης εφοδιασμένης στο φαγητό της ιριδιζουσας πέστροφας σε θαλασσινό νερό ολοκληρώθηκε στη Νορβηγία από τους Salte και Leistol το 1983. Δείγματα ήταν τριών ψαριών και θερμοκρασίες ήταν ελεγχόμενες ανάμεσα στους 8°C και στους 10°C σε δοκιμές με διαφορετικά μεγέθη ψαριών. Υιοθετήθηκαν μέθοδοι βιολογικής ανίχνευσης για σουλφαδιαζίνη και τριμεθοπρίμη με έναν δηλωμένο επηρεασμό των 0.04μg/gr και 0.002μg/gr. Και πάλι υπολογίστηκαν αναλογισίμα ψάρια έως και ποικιλίες ψαριών. Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων τους, οδήγησαν τους συγγραφείς στα επακόλουθα συμπεράσματα. Η εξέλιξη της εξάλειψης και για τις δυο, σουλφαδιαζίνη και τριμεθοπρίμη σύντομα έφτασε σε ένα σημείο στο οποίο έμεινε ένα μικρό αλλά επίμονο υπόλειμμα. Σε ζώα πιο κρύου νερού (7.6°C σε αντιπαράθεση με τους 9.7°C) η σουλφαδιαζίνη ήταν πιο ο δυνατός προωθητής υπολείμματος, ακόμη ανιχνεύσιμος στις 90 ημέρες κατόπιν θεραπείας. Αυτό προτάθηκε να είναι το ένα αποτέλεσμα της μεγαλύτερης ικανότητας συνδυασμού της σουλφαδιαζίνης σαν αδύναμος ηλεκτρολύτης. Οι συγγραφείς πρότειναν μια περίοδο απόσυρσης 60 ημερών για την σουλφαδιαζίνη τριμεθοπρίμη σε θερμοκρασίες νερού άνω των 10°C για ψάρι σε μέγεθος τραπέζιου και μια πρόληψη στην χρήση του κάτω από τους 10°C για ψάρι τέτοιου είδους. Οι Salte και Leistol το 1983 επίσης συνέστησαν ένα σπάνιο δειγματισμό ψαριού υπό αγωγή με δυνητική σουλφοναμίδα εάν ήταν να επιτραπεί η σφαγή μέσα στις συνιστώμενες περιόδους τους.

Μια περαιτέρω μελέτη των φαρμακοκινητικών σουλφαδιαζίνης (χρησιμοποιώντας μια HPLC μέθοδο), αυτή τη φορά στον κυπρίνο, ολοκληρώθηκε από τους Grondel, Nouws και Haenen το 1986 στην Ολλανδία. Στους 20°C, έγινε ένεση σουλφαδιαζίνης στον κυπρίνο από την ενδοπεριτονιακή οδό και είχε εξάλειψη μισής ζωής των 17.5h. Συνέβη και όξυνση και υδρογόνωση, αλλά παρουσίασαν μόνο 2 και 0.41% επαρκώς

της δόσης, μια δυνατή αντίθεση στην κατάσταση στα θηλαστικά, όπου η υδρογόνωση είναι πολύ πιο σημαντική.

Η ακτίνα των συνθηκών ειδών ψαριών, περιεκτικότητες άλατος, θερμοκρασίες και αναλυτικές τεχνικές συσχετιζόμενες με διάφορες περιγραφόμενες μελέτες κάνουν μια ολική ανακεφαλαίωση δύσκολη, αλλά βρέθηκε ότι οι σουλφοναμίδες είναι γρήγορα απορροφώμενες επίσης όταν παρέχονται από το στόμα και σε θεραπεία μπάμιου. Η εξάλειψη είναι αρχικά σύντομη αλλά ένα μικρό μα επίμονο υπόλειμμα και των δυο σουλφοναμίδης και δυνητικού, μπορεί να παραμείνει για μια μακρόχρονη περίοδο. Οι αναλογίες ανάληψης και εξάλειψης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, αλλά αρκετή από την πειραματική εργασία ολοκληρώθηκε σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από οποιαδήποτε, στην οποία κανονικά υιοθετούνταν η εφαρμογή των σουλφοναμίδων (σίγουρα στο Ηνωμένο Βασίλειο). Για αυτό σχόλια πάνω στις απαιτήσεις για παρατεταμένες περιόδους απόσυρσης (π.χ. 60 ημέρες) για τέτοια φάρμακα πρέπει να ερμηνευτούν μόνο με την έννοια των πειραματικών συνθηκών που εμπλέκονται και δεν θα έπρεπε να παραταθούν σε άλλα είδη ψαριών και / ή σε συνθήκες για τις οποίες δεν υπάρχει πειραματική απόδειξη.

4.2 ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ

4.2.1 Δομή και τρόπος δράσης

Οι τετρακυκλίνες οι οποίες είναι ανάμεσα στις συχνότερα χρησιμοποιημένες ευρέως φάσματος αντιβιοτικά είναι οκταύδρο-ναφθασίνες. Η πρώτη τετρακυκλίνη, που απομονώθηκε ήταν η χλωροτετρακυκλίνη το 1947 (Albert, 1947). Όλες οι τετρακυκλίνες εξαρτώνται από μια προνομιακή συσσώρευση στα βακτηρία για την εκλεκτικότητα τους, σχηματίζοντας ένα μείγμα λίπους με μαγνήσιο στην βακτηριακή πλασματική μεμβράνη, το οποίο με τη σειρά του οδηγεί στην διαθεσιμότητα τους στο βακτηριακό κυτόπλασμα. Στο κυτόπλασμα, οι τετρακυκλίνες γίνονται ένα με την μονάδα ριβοσώματος 30S και παρεμποδίζουν την σύνθεση πρωτεϊνών. Το γεγονός ότι οι τετρακυκλίνες είναι χηλικοί παράγοντες, σημαίνει ότι μπορεί να ενεργοποιηθούν στα εντόσθια από διαιτητικά ιόντα ασβεστίου και μαγνησίου. Έτσι, η σκληρότητα του νερού μπορεί επίσης να έχει σχέση με την επαρκή χρήση των τετρακυκλίνων στο ψάρι. Μόνο τρεις τετρακυκλίνες έχουν ερευνηθεί για χρήση στην θεραπεία των ασθενειών του ψαριού: η χλωροτετρακυκλίνη, η οξυτετρακυκλίνη και μια από τις νεότερες με μακροχρόνια δράση τετρακυκλίνη, η δοξυκυκλίνη (σχήμα 1.8).

4.2.2 Χρήση και τοξικότητα

Και οι δυο, οξυτετρακυκλίνη και χλωροτετρακυκλίνη εξετάστηκαν για τη δύναμή τους σαν χημειοθεραπευτικά αλιέων λίγο αργότερα αφότου έγιναν διαθέσιμα για ιατρική χρήση. Ο Snieszko et al. το 1952, εξέτασε μια ακτίνα νέων αντιβιοτικών για δράση ενάντια στην *Aeromonas salmonicida* χρησιμοποιώντας πρακτικές τεχνικές και βρήκε την απόδοση της οξυτετρακυκλίνης κατώτερη μόνο της απόδοσης της χλωραμφενικόλης. Σε φυσικά ξεσπάσματα ασθένειας έλκους της πέστροφας του ποταμού που έχει προκληθεί από *Heamophilus piscirus*, ο Snieszko et al. το 1951 βρήκε ότι η οξυτετρακυκλίνη, παρεχόμενη από το στόμα στα 75mg/κιλο σωματικού βάρους fingerling (δηλαδή άτομα γόνου μέχρι το βάρος των 10 gr) πέστροφας του ποταμού ανά ημέρα, είχε αξιοσημείωτη ενεργητική επίδραση αρκεί η θεραπεία να άρχιζε πριν η μόλυνση εξαπλωθεί. Παρόμοιες δόκιμες με φυσικά ξεσπάσματα

δοθίνωσης στην πέστροφα του ποταμού παρήγαγαν μια μείωση στην θνησιμότητα στα 6.8% σε σύγκριση με 21.6% σε μη θεραπεύσιμους έλεγχους. Σε μια δεύτερη δοκιμή, καθ' όλη τη διάρκεια της οποίας είχαν εφαρμοστεί συγκεντρώσεις διάφορων φάρμακων, η οξυτετρακυκλίνη αποδείχθηκε ανώτερη σε απόδοση από την χλωροτετρακυκλίνη, η οποία δεν επέδειξε κάποια βελτιωμένη επιβιοτικότητα σε σύγκριση με τους ελέγχους.

Άλλοι παθογενείς ενάντια στους οποίους δοκιμάστηκε η οξυτετρακυκλίνη συμπεριλαμβάνουν τον *Chondrococcus columnaris*, ο αίτιος παράγοντας της ασθένειας "Columnaris" (Kincheloe 1962), ο οποίος παρεμποδίστηκε από 10mg οξυτετρακυκλίνης in vitro του *Aeromonas liquifaciens* ελεγχόμενος σε Golden shiners από μια οχταήμερη θεραπευτική αγωγή των 55 mg / κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα (Meyer, 1964) και τον *Pseudomonas* σε άσπρα γατόψαρα όπου οι ανώμαλες θνησιμότητες σταμάτησαν μετά από 4 ημέρες θεραπείας με οξυτετρακυκλίνη στα 55 mg/κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα (Meyer και Collar, 1964). Εξαιρετικά αποτελέσματα ενάντια στην σήψη των πτερυγίων αναφέρθηκαν για φαρμακευτικά μπάνια οξυτετρακυκλίνης ή οξυτετρακυκλινοστρεπτομυκίνης (Irwin, 1959; Sora, 1963). Έλεγχος των μολύνσεων στρεπτόκοκκου στα Golden shiners αναφέρθηκε από τους Robinson και Meyer το 1966 χρησιμοποιώντας 13mg/lit οξυτετρακυκλίνης σαν φαρμακευτικό λουτρό.

Η σπουδαιότητα της οξυτετρακυκλίνης στην ιχθυοκαλλιέργεια της Βόρειου Αμερικής υπογραμμίστηκε από της έκδοση το 1969, δέκα φύλλων πάνω στην οξυτετρακυκλίνη στα ψάρια από την Αμερικανική Υπηρεσία Ιχθύων και Αγρίας Ζωής (U.S Fish and Wild life Service), εκ των οποίων το πρώτο ήταν η επανάληψη της οξυτετρακυκλίνης στην ιχθυοκαλλιέργεια από τον Herman το 1969, ο οποίος επίσης συνείσφερε μια σύντομη πειραματική μελέτη πάνω στην τοξικότητα της στην ιριδίζουσα πέστροφα. Τα ψάρια ταΐζονταν με θεραπεύσιμη τροφή που περιείχε μέχρι και 300mg οξυτετρακυκλίνης ανά κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα για 14 ημέρες και εξαναγκαζόταν να τρέφονται μέχρι και με τέσσερις ταμπλέτες των 50mg οξυτετρακυκλίνης ανά ημέρα για 5 ημέρες με επιδράσεις θετικές πέραν της απώλειας ορέξεως και του λήθαργου στο ψάρι κατά της τελευταία ημέρα της αναγκαστικής

τροφοδότησης στα 200mg ανά ψάρι ανά ημέρα. Ο Herman το 1969, συμπεραίνει ότι “υπό συνθήκες ιχθυοτροφείου είναι μάλλον αδύνατο να τροφοδοτήσεις φονικά επίπεδα”.

Αποτελέσματα δοκίμων *in vitro* πάνω στην ευαισθησία των *Aeromonas salmonicida*, *A. Liquifaciens*, *Pseudomonas fluoresceus*, *Yersinia ruckeri* και *Cytophaga psychrophila* στην οξυτετρακυκλίνη έδειξαν ότι όλα ήταν το ίδιο επηρεάσιμα (Byllock και Collins, 1969). Εργαστηριακές μολύνσεις της πέστροφας του ποταμού και της ιριδίζουσας με *Aeromonas salmonicida* ελέγχθησαν με αναγκαστική τροφοδοτήσει θεραπεύσιμης τροφής με οξυτετρακυκλίνη. Όταν οι Currens και Herman το 1969 έδωσαν οξυτετρακυκλίνη στα 100 mg / κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα στον Coho salmon για τρεις ημέρες πριν από τις αρχικές μολύνσεις με *Aeromonas salmonicida* ή *Cytophaga psychrophila*, διαπίστωσαν ότι η οξυτετρακυκλίνη δραστική σε υψηλό βαθμό σαν προφυλακτικό ενάντια στην ασθένεια “columnaris” και δραστική σαν προφυλακτικό ενάντια στην δοθιήνωση αλλά εάν ήταν παρόντα μικροβιακά στελέχη της *Aeromonas salmonicida* με αντοχή, η προστασία θα ήταν ανεπαρκής.

Η προφυλακτική αγωγή συστάθηκε για σημεία με προβλέψιμα ξεσπάσματα δοθιήνωσης. Ο Amend το 1969 οδηγήθηκε στα ίδια συμπεράσματα όταν μελέτησε την δύναμη της οξυτετρακυκλίνης στην παρεμπόδιση και στον έλεγχο της δοθιήνωσης. Χρησιμοποιώντας ένα σύστημα πρόκλησης απόξεσης δέρματος ανακάλυψε ότι με μια σταθερή θεραπευτική αγωγή 80mg/ κιλό σώματος ανά ημέρα, η οξυτετρακυκλίνη ήταν δραστική στην παρεμπόδιση σημαντικής θνησιμότητας αρκεί η θεραπεία να άρχιζε πριν την προσκόλληση. Εάν η θεραπεία με οξυτετρακυκλίνη καθυστερούσε μέχρι κατόπιν της πειραματικής πρόσκλησης, τότε η θνησιμότητα ήταν ακόμα αξιοσημείωτα λιγότερη από ότι στον μη θεραπεύσιμο έλεγχο ψαριών η κυριότητα της άμεσα εξαρτώμενη από τη διάρκεια της καθυστέρησης προτού αρχίσει η θεραπεία. Οι Robinson, Meyer και Fribourgh το 1969, επεκτάθηκαν πάνω στις προηγούμενες ενδείξεις ότι η οξυτετρακυκλίνη να μπορούσε να είναι αποτελεσματική ενάντια στους βακτηριακούς παθογενείς των ψαριών ζεστού νερού, μελετώντας την επίδραση τους στις *Aeromonas liquifaciens*, *Pseudomonas spp.* και *Mycobacteria* στα μπλε

γατόψαρα και στα γατόψαρα των καναλιών. Καλή προστασία ενάντια στις εργαστηριακές και στις φυσικές μολύνσεις με *Aeromonas liquidum* επιτεύχθηκε με οξυτετρακυκλίνη παρεχόμενη με διάφορους μεθόδους στα 55mg/ κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα για 10 ημέρες, θεραπεία των προηγούμενων μολυσμένων ζώων επιτεύχθηκε μόνο με αναγκαστική τροφοδοτήσει.

Ένα ανανεωμένο ενδιαφέρον στην χλωροτετρακυκλίνη σαν αποτέλεσμα μελέτης του Deufel το 1969 οδήγησε στην αυξανόμενη χρήση του στη Γερμανία για τον έλεγχο της δοθιήνωσης στην πέστροφα (Gilende, Wenzel και Roth, 1974). Στις ΗΠΑ, ενδιαφέρον είχε συγκεντρώσει η χρήση της χλωροτετρακυκλίνης σαν διάλυμα για κρέας ψαριού ή στην συσκευασία πάγου του, με χρήση που επιτράπηκε από την Αμερικανική Επιτροπή Τροφίμων και Φάρμακων (US Food and Drug Administration) μέχρι το 1967. Στην Ιαπωνία ο Nakamura το 1982 πρότεινε τη χρήση της δοξυκυκλίνης για χρήση ενάντια στην στρεπτόκοκκος στα yellowtail, διαπιστώνοντας ότι είναι δραστικό σε δόσεις μεταξύ των 20-50mg/κιλό σωματικού βάρους παρεχόμενη για 7 ημέρες με θερμοκρασίες νερού των 25°C.

Γενικά η οξυτετρακυκλίνη βρέθηκε μικρής τοξικότητας στο ψάρι. Ο Wagner το 1954 ανέφερε ότι μια 43ημερη στοματική θεραπεία της ιριδιζουσας πέστροφας στα 22 mg / κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα προκάλεσε μείωση της ανάπτυξης. Παρόλο που αναφέρθηκε πως τα ιαματικά λουτρά περιέχοντας 100ppm οξυτετρακυκλίνης έχουν προκαλέσει 100% θνησιμότητα του Sockeye σολομού εκτεθειμένου για μακροχρόνιες περιόδους (8-40 ώρες) (Weber και Ridgeway, 1962), ο Choate το 1964 βρήκε ότι τα λουτρά που περιείχαν από 100 μέχρι 500 ppm οξυτετρακυκλίνης προκάλεσαν ασήμαντες απώλειες στα ιχθύδια πέστροφας ποταμού σε δυο ώρες έκθεσης.

Πιο πρόσφατα, σε μια σειρά από τέσσερα φύλλα ο Grondel και συνάδελφοι του (Grondel & Boesten, 1982; Grondel, Gloudemans & Van Muiswinkel, 1985a; Grondel, Angenent & Egberts, 1985b; Grondel, Nouws & Van Muiswinkel, 1987c) ερευνήσαν τις επιδράσεις της οξυτετρακυκλίνης πάνω στο ανοσοποιητικό σύστημα του κυπρίνου. In vitro μια καθαρή ανοσοποιητικό - κινητοποιούσα επίδραση έκανε την εμφάνιση της. In vitro παρόλο που τα κινητικά της ανταπόκρισης του κύτταρου που σχηματιζόταν σε

πλάκα δεν είχε επηρεαστεί, ο αριθμός των πλοκό - σχηματιζόμενων κύτταρων μειωνόταν σημαντικά, η επίδραση επέμενε μέχρι και δώδεκα ημέρες.

Οι τετρακυκλίνες είναι αποθηκευμένες στα κοκάλια του ψαριού περισσότερο στα υψηλότερα σπονδυλωτά και διεκπεραιώθηκαν αρκετές μελέτες για να δείξουν την πρακτικότητα της χρήσης της οξυτετρακυκλίνης σαν δείκτη για ψάρια στο κοπάδι και της συσσώρευσης ερευνών (Weber & Ridgeway, 1962, 1967).

4.2.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων

Εκτός από μια πολύ προκαταρκτική μελέτη από τον Silven et al. το 1968, η οποία επέδειξε την πρακτικότητα της ανίχνευσης υπολειμμάτων οξυτετρακυκλίνης στο ψάρι, δεν υπήρχε καμία δημοσιευμένη πληροφορία σχετικά με τα επίπεδα ιστών και τα υπολείμματα οξυτετρακυκλίνης στο ψάρι πριν την έκδοση της U.S Fish and Wild life σειράς έγγραφων το 1969, που περιείχαν τέσσερα φύλλα πάνω σε σχετικές έρευνες. Οι Herman, Collis και Bullack το 1969 μελέτησαν τα φαρμακοκινητικά της οξυτετρακυκλίνης σε τρία είδη πέστροφας: την ιριδιζούσα, του ποταμού και την καφέ, σε τρεις θερμοκρασίες χρησιμοποιώντας μεθόδους βιολογικής ανίχνευσης (σχήματα 1.9, 1.10 και 1.11). Αναλογία δόσης ήταν 75 mg / κιλό ανά ημέρα για 14 ημέρες. Οι πυκνώσεις των ιστών και στα τρία είδη ήταν υψηλότερες στο συκώτι, ακολουθούμενες από τον μυ, το πλάσμα και τα νεφρά. Διαπιστώθηκε ότι οι εκχύσεις φαρμάκων ήταν εξαρτώμενες από την θερμοκρασία. Στον μυ τα υπολείμματα οξυτετρακυκλίνης ήταν ανιχνεύσιμα μέχρι και για 28 ημέρες στους 6-7°C, 15 ημέρες στους 9-10°C (εξετάστηκε μόνο η ιριδιζούσα πέστροφα) και 10 ημέρες στους 12-13°C. Στο συκώτι, το όριο ανίχνευσης, ποικίλει ανάμεσα στα 0.2 και 0.5 ppm, επιτεύχθηκε στις 28-35 ημέρες στους 12-13°C. Ανιχνεύθηκε υπολογίσιμη παραλλαγή από ψάρι σε ψάρι. Η δόκιμη, κατά την οποία δείγματα μυ από πέστροφα που τέθηκε υπό τριήμερη θεραπεία οξυτετρακυκλίνης ψήθηκαν, βράστηκαν ή τηγανίστηκαν, έδειξε ότι οποιαδήποτε υπολείμματα οξυτετρακυκλίνης υπήρχαν στο ψάρι θα καταστρεφόταν με κανονικό μαγείρεμα.

Στα μπλε γατόψαρα και στα γατόψαρα των καναλιών οι Meyer, Fribourgh και Robinson το 1969 βρήκαν τα υψηλότερα επίπεδα ιστού οξυτετρακυκλικής επίσης στο συκώτι (πίνακας 1.2 και 1.3). Χρησιμοποιήθηκαν πειραματικές θερμοκρασίες των 16.6, 21.1 και 22.2-25.0°C και τα υψηλότερα μεμονωμένα υπολείμματα συκωτιού ανιχνεύθηκαν σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Οι περίοδοι κάθαρσης φαρμάκων ήταν μέγιστοι για το συκώτι και ήταν επίσης εξαρτημένοι από τη δόση, ψάρι τροφοδοτημένο με 50 mg / κιλό ανά ημέρα σε 22.2-25.0°C χρειάζεται περίπου 10 ημέρες για να καθαριστεί, ενώ αυτό που τροφοδοτήθηκε με 100 ή 200mg/kg χρειάστηκε 21 ημέρες. Στις 2 ημέρες δεν βρέθηκαν υπολείμματα στο όρο και στο μυ. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα, που επιτεύχθηκαν με την πέστροφα (Herman et al. 1969) στα γατόψαρα, η χαμηλότερη κλίμακα θερμοκρασίας απέφερε αποτέλεσμα σε μικρότερες παρά σε μεγαλύτερες περιόδους κάθαρσης.

Οι Fribourgh, Robinsο και Meyer το 1969c απέδειξαν ότι, στα γατόψαρα η ενδοπεριτονιακή εφαρμογή, τυποποιήσεων οξυτετρακυκλικής που παρεχόταν με ένεση, παρήγαγε σημαντικά υψηλότερα και περισσότερα επίμονα επίπεδα ιστών φαρμάκου από άλλες μεθόδους εφαρμογής. Και η εξαναγκαστική τροφοδότηση απέδωσε εξίσου υψηλά επίπεδα ορού. Οι συγγραφείς ανέδειξαν ότι αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να εφαρμοστούν σε χρήση με πολύτιμο απόθεμα νεογνών αλλά όχι στην συνηθισμένη καλλιέργεια. Η τελική μελέτη στην σειρά του U.S Fish and Wild life (Fribourgh, Meyer και Robinson, 1969a) στον διαχωρισμό της οξυτετρακυκλικής από τις φαρμακευτικές δίαιτες, έδειξε ότι το φαγητό μεγέθους pellet, η θερμοκρασία νερού και ο βαθμός οξύτητας (pH), όλα επηρέασαν την αναλογία διαχωρισμού αλλά ότι υπό κανονικές συνθήκες νερού για τον διαχωρισμό στα γατόψαρα δεν μετακίνησε περισσότερο 20% οξυτετρακυκλικής από το φαγητό κατά τη διάρκεια μιας 15λεπτης εμβαπτίσεις.

Το γεγονός ότι οι τετρακυκλικές είναι παράγοντες χηλικής ένωσης και φθορίζουν κάτω από φως ultra - violet, έχει χρησιμοποιηθεί σε πλήθος μελετών σε κοπάδια ψαριών (Weber και Ridgeway, 1962, 1967; Weber και Wahle, 1969). Οι Odense και Logan το 1974 ανακάλυψαν ότι η φθορίωση της τετρακυκλικής μπορούσε να ανιχνευτεί στα πλευρά και στο κέντρο (κορμό) του σολομού του Ατλαντικού για

περισσότερο από δυο χρόνια κατόπιν τροφοδοσίας, ενδεικνύοντας ότι τα κοκάλια του ψαριού εάν τεθούν υπό θεραπευτική αγωγή με οποιαδήποτε τετρακυκλίνη, το πιο πιθανό είναι να γίνουν ιστοί με τη μικρότερη επιμονή υπολείμματος. Πιο πρόσφατα, οι Koenings, Lipton και McKay το 1986 επέκτειναν την μέθοδο να καταστήσουν ικανά τα ψάρια μεγέθους 1gr να είναι υπεύθυνα μαρκαρισμένα.

Η χρήση της χλωροτετρακυκλίνης σαν συντηρητικό διάλυμα για το κρέας του ψαριού οδήγησε στην εξέλιξη βελτιωμένων τεχνικών για την αναγνώριση των υπολειμμάτων χλωροτετρακυκλίνης στους ιστούς του ψαριού (Blakely, Kramer και Selzer, 1969). Στην Γερμανία ο Glende et al. το 1974 στην πρώτη λεπτομερή μελέτη χλωροτετρακυκλίνης στο ψάρι, ανίχνευσε χλωροτετρακυκλίνη στην χολή, στο συκώτι, στο αίμα, στα νεφρά και στο μυ κατά την περιέλιξη τάξης της πύκνωσης. Χρησιμοποιήθηκαν θερμοκρασίες νερού σχετικά χαμηλές (μεταξύ 5°C και 8°C), έτσι ώστε η πληροφορία πάνω στην αναρρόφηση και εκροή ενός φαρμάκου που χρησιμοποιήθηκε για τη δοθιήνωση της πέστροφας, η οποία συμβαίνει σε μεγάλο βαθμό σε θερμοκρασίες άνω των 10°C, είναι μικρής πρακτικής συνεκτικότητας. Πάντως ακόμη και σε τέτοιες χαμηλές θερμοκρασίες η εκροή της χλωροτετρακυκλίνης παρουσιάζεται ταχεία.

Στην ερευνά τους πάνω στα υπολείμματα φαρμάκου στους ιστούς των ψαριών, ο McCracken et al. το 1976, βρήκε ανιχνεύσιμα υπολείμματα οξυτετρακυκλίνης στον μυ της ιριδιζουσας πέστροφας για 29 ημέρες μετά από ενδοπεριτονεϊκή ένεση (4.2 mg / kg), για 23 ημέρες κατόπιν συνεχούς στοματικής θεραπείας (750 mg / kg ψαριού ανά ημέρα για 14 ημέρες) και 11 ημέρες με μια μόνο "συσσωρευμένη δόση" (10.5 gr / kg ψαριού). Αυτά τα πειράματα δεν ολοκληρωνόντουσαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, ξεκινώντας στους 5°C και σε μερικές περιπτώσεις αυξάνοντας στους 10°C κατά τη διάρκεια του πειράματος. Οι συγγραφείς κάνουν σχόλια πάνω στην επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση των αναλογιών εκροής της οξυτετρακυκλίνης, αλλά δεν παρουσιάζουν ικανοποιητικές αποδείξεις για το θεώρημά τους, ότι "μια περίοδος παρακράτησης 3-4 μηνών κατόπιν θεραπείας τον χειμώνα θα ήταν απαραίτητη για την δημόσια υγεία" με οξυτετρακυκλίνη, αφού η μεγαλύτερη κατόπιν θεραπείας ανίχνευσης, που αναφέρουν είναι 29 ημέρες. Οι συγγραφείς

αποτυγχάνουν επίσης να παρουσιάσουν οποιαδήποτε εκτίμηση της δικής τους μεθόδου βιολογικής ανίχνευσης στους ιστούς του ψαριού και δεν δοκιμάζουν να προσδιορίσουν ποσοτικά το μικρότερο τους όριο ανίχνευσης σε πραγματικούς όρους σαν αντιπαράθεση της χρήσης μιας αυθαίρετης περιοχής αναβολών.

Περαιτέρω μελέτες στην χορήγηση οξυτετρακυκλίνης στον σολομό coho (Strasline και McBride, 1979), την ανίχνευση τους στον κυπρίνο (Blasiola, Dempster και Morales, 1980) και την εκροή της από τον κυπρίνο (Meunier, 1982), πρόσθεσαν λύσεις νέες πληροφορίες, άλλα το 1982, ο Salte εξέδωσε την πρώτη από τις δυο μελέτες που σκόπευαν να φτάσουν σε πραγματικές περιόδους απόσυρσης οξυτετρακυκλίνης στο καλλιεργημένο ψάρι. Χρησιμοποιώντας σταθερές βιολογικές μεθόδους, εδραίωσε ένα όριο ανίχνευσης του 0.02 $\mu\text{g} / \text{g}$ στον μυ του ψαριού και έκανε αρχικές απόπειρες να εκτιμήσει τους χρόνους εκροής της ιριδίζουσας πέστροφας σε υφάλμυρο (2.5 ppt νερό). Οι μεταβολές ήταν μεγάλες και το μέγεθος του δείγματος (τρία ψάρια ανά δείγμα) μικρό, έτσι ώστε στους 7.7°C ένας χρόνος εκροής που εκτιμάται στις 45 ημέρες είχε 95% βέβαια όρια από 29 μέχρι 128 ημέρες. Η δεύτερη μελέτη (Salte και Leistol, 1983) εξέτασε το πρόβλημα με περισσότερη λεπτομέρεια, αλλά και πάλι χρησιμοποίησε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες νερού (7.5°C και 9.6°C), μικρό (τρία) μέγεθος δείγματος ψαριού και αυτή τη φορά νερού polyhaline (25ppt). Τα αποτελέσματα τους έγιναν αντικείμενο στατιστικής ανάλυσης και σταθερών αναλογικών εξάλειψης, που καθορίστηκαν βάση του συμπεράσματος, ότι κατόπιν της διανομής ισορροπία είχε εδραιωθεί από 5 ημέρες στους 9.6°C και 18 ημέρες στους 7.5°C. Οι σταθερές αναλογίες εξάλειψης βρέθηκαν εξαρτώμενες της θερμοκρασίας με μια παρ' ολίγο 10% αύξηση με 1°C αύξηση στην θερμοκρασία νερού. Προτάθηκαν περίοδοι απόσυρσης βασισμένοι πολύ συντηρητικά στον χρόνο, που μεσολαβεί ανάμεσα στο όριο ανίχνευσης (0.004 $\mu\text{g} / \text{g}$ σε αυτή τη μελέτη) και στο 90% παραπάνω όριο πρόβλεψης (ο χρόνος στον οποίο 90% των ψαριών περιέχοντα υπολείμματα υψηλότερα του προβλεπόμενου μέσου θα είχαν φτάσει το όριο ανίχνευσης). Αυτοί οι περίοδοι ήταν 60 ημέρες άνω των 10°C και 100 ημέρες σε θερμοκρασίες μεταξύ 7°C και 10°C, για ψάρια σε θεραπεία μέχρι και 75 mg / kg από το στόμα για όχι περισσότερες από 10 διαδεχόμενες ημέρες (η πιο ευρέως συνιστώμενη θεραπευτική αγωγή).

Ο Grondel και οι συνάδελφοι σε σύμπραξη των μελετών τους πάνω στις επιδράσεις της οξυτετρακυκλίνης που θέτουν σε λειτουργία την ανοσία του ψαριού, εξέτασαν επίσης τα φαρμακοκινητικά της στον κυπρίνο (στους 20°C), στην ιριδιζουσα πέστροφα (στους 12°C) και στα αφρικάνικα γατόψαρα (στους 25°C) χρησιμοποιώντας μεθόδους μικροβιολογικής ανίχνευση. Δυο (γατόψαρα) ή τρία τμήματα ανοιχτά φαρμακοκινητικών μοντέλων βρέθηκαν να ταιριάζουν στα επίπεδα φαρμάκων του πλάσματος, που παρατηρήθηκαν μετά από i.v. χορήγηση στα 60 mg / kg σωματικού βάρους. Επιτεύχθηκαν 140 ώρες τελικής εξάλειψης μισών ζωνών για τον κυπρίνο, 89.5 ώρες για την πέστροφα και 80 ώρες για τα γατόψαρα, με σημειωμένες διαφορές μεταξύ των ειδών που ήταν υπό παρατήρηση για σταθερή αναλογία διάχυσης, ποσότητες κεντρικών τμημάτων διανομής και κάθαρσης σώματος. Επιτεύχθηκε απόδειξη της συσσώρευσης της οξυτετρακυκλίνης στον πρόνεφρο, στα κόκαλα και στα λέπια του κυπρίνου μετά από μια μόνο ενδομυϊκή ένεση (60 mg / kg) στα 2.9, 5.2 και 4.7 μg / ml σε 21 ημέρες και ανιχνεύθηκαν επίπεδα πλάσματος μεγαλύτερα των 50 mg / ml ύστερα από σχετικά μακρόχρονες περιόδους.

Για να ανακεφαλαιώσουμε, η οξυτετρακυκλίνη έχει αποδειχθεί πως είναι ένα από τα πιο δραστικά και συχνά χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά στην ιχθυοκαλλιέργεια αλλά δεν υπάρχει κάποια πρόσφατη απόδειξη που να ευνοηθεί πως ίσως να είναι απαραίτητοι μεγαλύτεροι χρόνοι απόσυρσης, παρόλο που αρκετές από αυτές τις πειραματικές αποδείξεις βασίζονται σε θερμοκρασίες νερού χαμηλότερες απ' αυτές στις οποίες χρησιμοποιείται κανονικά το φάρμακο στο Ηνωμένο Βασίλειο. Παλαιότερες αποδείξεις συλλεγμένες σε υψηλότερες θερμοκρασίες νερού και με κοινώς παραδεκτά υψηλότερα όρια ανίχνευσης, επιβεβαιώνουν την σχέση ανάμεσα στην αυξημένη θερμοκρασία και στην αυξημένη θερμοκρασία και στην αυξημένη ανάλογα εκροής της οξυτετρακυκλίνης και έτσι δεν υποστηρίζει την ανάγκη για εκτεταμένες περιόδους απόσυρσης. Μολονότι υπάρχουν λίγες αποδείξεις τοξικών επιδράσεων της οξυτετρακυκλίνης στο ψάρι, οι πιθανές καταθλιπτικές επιδράσεις της οξυτετρακυκλίνης στην ανοσοποιητική ανταπόκριση του ψαριού μόλις τώρα αναγνωρίζεται.

4.3 4-ΚΒΙΝΟΛΟΝΕΣ (ΤΕΤΡΑΚΒΙΝΟΛΟΝΕΣ)

4.3.1 Δομή και τρόπος δράσης

Οι τετρακβινιλόνες είναι συνθετικοί αντιβακτηριακοί παράγοντες, δηλαδή είναι αντιμικροβιακοί και όχι αντιβιοτικοί. Η πρώτη, ναλιδικό οξύ, περιγράφηκε το 1962 (Leshner, Froelich, Gruett, Bailey και Brundage, 1962) και ακολούθησε ένα φάσμα ανάλογων από τα οποία το πιρομιδικό οξύ, το οξαλινικό οξύ και η φλουμεκβίνη, ερευνήθηκαν για τις δυνατότητες τους σαν χημειοθεραπευτικά αλκείων. Παρόλο που το ναλιδικό οξύ είναι μια ναφθρίνη, ο Smith το 1985, άφησε να εννοηθεί πως αφού ο σκελετός, κοινός σε όλα τα μέλη αυτής της ομάδας φαρμάκων είναι η 4-οξυ-1,4-διθδροκβινολίνη, το πιο ταιριαστό χαρακτηριστικό του γένους όνομα για αυτούς τους αντιβακτηριακούς παράγοντες είναι η 4-κβινολονη. Στην Ευρώπη το οξαλινικό οξύ και η φλουμεκβίνη (εικόνα 1.2) έχουν γίνει τώρα ευρέως αποδεκτά για τον έλεγχο της δοθιήνωσης και της εντερικής ασθένειας της redmouth στην καλλιεργούμενη πέστροφα. Οι 4-κβινολονες απορροφούνται καλά από το στόμα, γενικά αντέχονται καλά, και είναι βακτηριακές στα Gram- βακτήρια, κυρίως επειδή χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη ιατρική στις μολύνσεις του ουρικού συστήματος.

Ο τρόπος της δράσης είναι μέσω παρέμβασης στη δράση του βακτηριακού DNA (gyrase) εμποδίζοντας την ολοκλήρωση της αρνητικής υπεραπειρώσης του βακτηριακού χρωμοσώματος. Ενώ τα ευαίσθητα βακτηριακά κύτταρα πεθαίνουν από έκθεση στις 4-κβινολονες γίνεται μια μη κανονική (ασυνήθιστη) επιμήκυνση κυττάρων. Αυτό σημαίνει ότι οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν την θολερότητα ή την οπτική πυκνότητα για να μετριάσουν τους αριθμούς των βακτηριακών κυττάρων στο εργαστήριο δεν ταιριάζουν για χρήση με αυτά τα αντιμικροβιακά (Smith, 1985). Οι 4-κβινολονες δεν υποφέρουν από πλασμιδική - μεταβατική αντιμικροβιακή αντοχή. Όντως οι (Rumplin και Smith, 1985) έχουν δείξει ότι αυτά τα φάρμακα συχνά έχουν σαν αποτέλεσμα στην πλασμιδική εξάλειψη από φορέα βακτηρίων. Έτσι, ο μόνος τρόπος αντίστασης είναι με την μετάλλαξη και η εξέλιξη της αντίστασης των οργανισμών σε μια 4-κβινολονη τους κάνει συνήθως ανθεκτικούς σε άλλους. Νεότερες 4-κβινολονές φαίνονται να έχουν επιπρόσθετους τρόπους δράσης και για αυτό δεν

είναι υποκείμενο διασταύρωσης, αντοχής κατ' αυτόν τον τρόπο, αλλά αυτά τα φάρμακα δεν φαίνονται ακόμη να υπολογίζονται για πιθανή χρήση στις αλειείας.

4.3.2 Χρήση και τοξικότητα

Το αντιμικροβιακό φάσμα των 4-κβινολονων είναι σε μεγάλο βαθμό περιορισμένο στα gram- βακτήρια που, τέλος πάντων, προκαλούν μερικές από τις πιο σημαντικές ασθένειες των ψαριών. Παρόλο που το ναλιδικό οξύ εξελίχθηκε στις ΗΠΑ, το πρώτο ενδιαφέρον των αλειειών προς τις 4-κβινολονες προήλθε από την Ιαπωνία, όπου ερευνήθηκε το οξολινικό οξύ για την αποτελεσματικότητα ενάντια στην *Aeromonas salmonicida*, *A. Liquifaciens*, *Vibrio anguillarum* και *Chonodrococcus culummaris* (Endo, Ogishima, Hayasaka, Kaneko και Oshima, 1973). In vitro μελέτες εδραίωσαν ελάχιστες προληπτικές πυκνώσεις (MIC) οξολινικού οξέως για αυτούς τους οργανισμούς από 0.02 μέχρι 0.009μg/ml που ήταν ανάμεσα σε 4 και 100 φορές τόσο δραστικό όσο και η νιφουρπρινόλη. Αυτά τα επίπεδα δεν αυξήθηκαν ενάντια σε μικροβιακά στελέχη του *A. Liquifaciens*, που ήταν ανθεκτικά στα αντιβιοτικά.

Πειραματικές μολύνσεις του κοινού κυπρίνου και του δερματώδη κυπρίνου, ελέγχονται με χορήγηση οξολινικού οξέως. Ιαματικά λουτρά στους 13°C για 24 ώρες, απέδωσαν > 50% σωτηρία στα 1.0μg/l και 100% σωτηρία στα > 3.0μg/ml, ενώ η στοματική θεραπεία στα 3.0 και 1.0μg/l ανά ημέρα παρήγαγε 100% σωτηρία σε σύγκριση με το 100% θνησιμότητα σε μη θεραπευτικούς ελέγχους. Η δόση των 1.0mg/kg ανά ημέρα δεν μείωσε τη θνησιμότητα, αλλά αύξησε το χρόνο σωτηρίας-επιβίωσης. Η χλωραμφενικόλη και η νιτροφουραζόνη είχε μικρά απόδοση σε συγκριτικές δοκιμές. Δερματώδης κυπρίνος τεχνητά μολυσμένος με *columnaris* επιβίωσαν όλα αν τους παρεχόταν για 24 ώρες μπάνια οξολινικού οξέως, ακόμα και σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές, όπως 1.0μg/ml. Στοματική χορήγηση στον κυπρίνο μιας μόνο δόσης οξολινικού οξέως των 400mg/kg δεν ήταν τοξική, όπως δεν ήταν και τα συνεχή λουτρά των 25 μg/ml, αλλά στα 25 μg/ml συνέβησαν μερικές θνησιμότητες και τα 100 μg/ml ήταν θανατοφόρα για όλα τα ψάρια μέσα σε 48 ώρες.

Άλλες 4-κβινολόνες ερευνήθηκαν σε μια συγκριτική μελέτη από τον Jo το 1978 που βρήκε εξίσου δραστικά το οξολινικό οξύ και το ναλιδικό οξύ ελαττωμένα στα 2.0ppm σε ιαματικά λουτρά χελιών, που είχαν προσβληθεί από *Pseudomonas anguilliseptica* και το οξολινικό οξύ και το πιρομιδικό οξύ ελαττωμένα στα 5.0μg/kg ισοδύναμα σαν στοματικά θεραπευτικά. Ακολούθησαν περαιτέρω μελέτες πιρομιδικού οξέως στην Ιαπωνία. Οι Katae, Kuono, Takase, Miyazaki, Hashimoto και Shimizu το 1979a καθόρισαν το MIC για τις *Aeromonas salmonicida*, *A. Liquefaciens*, *Vibrio anguillarum*, *Edwardsiella tarda*, *Pasturella piscicida*, *Pseudomonas anguilliseptica* και *Flexibacter columnaris* να βρίσκονται ανάμεσα στα 0.1 και 3.0 μg/ml με τον *Vibrio anguillarum* να είναι το ελάχιστο και την *Aeromonas salmonicida* την πιο ευαίσθητη.

Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με το γενικά αποδεκτό σχέδιο για το πιρομιδικό οξύ που, όπως το ναλιδικό οξύ, είναι σχεδόν 10 φορές λιγότερο δραστικό από το οξολινικό οξύ (Smith, 1985). Τα χρυσόψαρα ήταν πλήρως προστατευμένα από την εργαστηριακή πρόκληση με *A. hydrophila*, από μια μόνη στοματική δόση πιρομιδικού οξέως στα 6.1mg/kg, όπου τα 8.1 mg/kg χλωραμφικενόλης παρήγαγαν μόνο 70% και τα 917 mg/kg τετρακυκλίνης παρήγαγαν μόνο 60% σωτηρία. Στα χέλια, μια παρόμοια πρόκληση ελέγχθηκε από μια μόνη στοματική δόση των 3.13 mg/kg πιρομιδικού οξέως και 1.56 mg/kg έδωσε 90% σωτηρία. Η χλωραμφικενόλη και η τετρακυκλίνη ήταν σχετικά πιο αποτελεσματικές στα χέλια, ενάντια στην *A. hydrophila* δίνοντας 70% σωτηρία στα 3.13mg/kg και 100% στα 50mg/kg σεβαστά.

Ευρύτερο ενδιαφέρον για το πιρομιδικό οξύ εκφράστηκε στην Ιαπωνία σε μελέτες των Tashiro, Morikawa, Motonishi, Sanjo, Kimura, Inoue, Nomura, Ushiyama, Jo, Hayashi και Kunmine το 1979, που μελέτησαν την στοματική θεραπεία των ξεσπασμάτων της δοθιήνωση στα Amago *Oncorhynchus rhodurus*, Yamane *O. Masou* και *Salvelinus fortinatlis* στην πέστροφα του ποταμού, Vibriosis στην ιριδιζούσα πέστροφα και edwardsiellosis στο χέλι. Αναλογίες τροφοδοσίας ήταν 10, 20 και 40 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα και καλός έλεγχος των διαφορετικών μολύνσεων επιτεύχθηκε σε αυτές τις προσπάθειες, που περιελάμβανε πάνω από 440.000 ψάρια.

Στην Γαλλία, μια καινούργια αντιβιοτική 4-κβινολονη, η Φλουμεκβίνη, εισήχθηκε στην ιατρική και κτηνιατρική χρήση στα τέλη του 1970 (Bent...1979) και ερευνήθηκαν αλιευτικές δυνατότητες από τους Michel, Gerard, Fourbet, Collas και Chevalier το 1981, οι οποίοι επέδειξαν την αποτελεσματικότητα του ενάντια στη δοθιήνωση της καφέ και της ιριδίζουσας πέστροφας. Στους 15°C, εργαστηριακές μολύνσεις *Aeromonas salmonicida* ελέγχθηκαν επιτυχώς με στοματική θεραπεία στα 12 και 24 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα για 6 ημέρες αρκεί η θεραπεία να άρχιζε την ώρα της πρόκλησης. Εάν η θεραπεία καθυστερούσε για 20 ώρες κατόπιν πρόκλησης η προστασία μειωνόταν αξιοσημείωτα. Οι συγγραφείς πρότειναν μια αναλογία δόσης των 12 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα για πρακτική ιχθυοκαλλιεργητική χρήση. Δεν σημειώθηκαν τοξικές παρενέργειες στην ιριδίζουσα πέστροφα, που της χορηγήθηκαν 60 mg/kg φλουμεκβίνη για 10 ημέρες, ούτε ήταν επιβλαβής μια μόνο δόση των 2 g/kg.

Εκτενέστερες μελέτες πάνω στο οξολινικό οξύ, στο Ηνωμένο Βασίλειο, επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα του οξολινικού οξέως για τον έλεγχο της δοθιήνωσης (Austin, Rayment και Alderman, 1983) και της εντερικής ασθένειας redmouth (Rodgers και Austin, 1983) καθώς το μείγμα γρήγορα έγινε αποδεκτό στην Βρετανική βιομηχανία ιχθυοκαλλιέργειας.

Παρόλο που δεν είχαν αναφερθεί σημαντικές τοξικές παρενέργειες για καμία 4-κβινολονη στο ψάρι σε κανονικές δόσεις, οι Miyazaki, Nakauchi και Kubota το 1984, βρήκαν ασύλληπτες παρενέργειες στα yellowtail εκτεθειμένα σε 6 και 20 φορές μεγαλύτερης της κανονικής καθημερινής δόσης οξολινικού και ναλιδικού οξέως για περιόδους 7 ημερών. Το οξολινικό οξύ είναι εκκρινόμενο στην Ιαπωνία για θεραπεία της *Pasterella piscicida* στα yellowtail. Και τα δυο οξέα, οξολινικό και ναλιδικό, παρήγαγαν μια ασύλληπτη απώλεια της όρεξης και σκουροχρωμία του δέρματος. Τα ερυθρόκυτα, έγιναν μακροσυτικά και το συκώτι σημείωσε ελάχιστη μείωση λίπους με ηπατοσυτη ατροφία (*hepatocyte atrophy*). Επιδράσεις του ναλιδικού οξέως σημειώθηκαν περισσότερο από αυτές που παρήχθησαν από το οξολινικό οξύ. Ο Katae et al. το 1979a βρήκε το LD₅₀ για το πυρομιδικό οξύ να είναι μεγαλύτερο των 750 mg/kg για τα χρυσόψαρα και 2000 mg/kg για τα χέλια. Δεκαήμερες θεραπευτικές

αγωγές των 125 mg/kg για τα χρυσόψαρα και των 1000 mg/kg για τα χέλια δεν ήταν φονικά, αλλά 10 ημέρες στα 250 mg/kg παρήγαγαν ένα 50% θνησιμότητα στα χρυσόψαρα και 2000 mg/kg μια 100% θνησιμότητα στα χέλια.

4.3.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων

ΟΞΟΛΙΝΙΚΟ ΟΞΥ: Στις αρχικές τους μελέτες, ο Endo et al. το 1973, χρησιμοποίησε βιοαναλυτικές μεθόδους, ανίχνευσαν οξολινικό οξύ στον ορό του κυπρίνου κρατημένου στους 21°C σε 6 ώρες μετά από εξαναγκαστική στοματική χορήγηση δόσεων των 10 mg/kg και άνω, με ανώτατα επίπεδα ορό να είναι διατηρημένα στις 15-24 ώρες. Σε απόσυρση, το όριο ανίχνευσης (0-2 µg/ml) πλησιάστηκε σε ένα χρόνο εξαρτώμενο από το αυθεντικό επίπεδο δόσης, 144 ώρες για τον κυπρίνο, τροφοδοτημένο με 40mg/kg. Μια πιο πολύτιμη μελέτη ήταν αυτή που πρόσφατα αναφέρθηκε από τους Kasuga, Sugitani, Yamada, Arai και Morikawa το 1984. Χρησιμοποιώντας μια μέθοδο HPLC με ένα όριο αντοχής των 0.02µg/g, ερεύνησαν τις επιδράσεις του βάρους του ψαριού και της θερμοκρασίας του νερού στην έκκριση του οξολινικού οξέως ανά ημέρα για 5 ημέρες. Σε θερμοκρασίες μεταξύ 8°C και 11°C, το οξολινικό οξύ δεν ανιχνεύθηκε μετά από 10 ημέρες στον μυ και στο συκώτι πέστροφας 160g, σε ψάρι 10g ήταν ακόμη παρόν στον μυ στις 13 ημέρες και στο συκώτι αλλά όχι στον μυ στις 16 ημέρες. Στους 17-19°C, το οξολινικό οξύ ήταν ακόμη ανιχνεύσιμο σε 14 ημέρες και στον μυ και στο συκώτι, αλλά όχι σε 21 ημέρες σε ιριδίζουσα πέστροφα 240g. Στα 40g ayu σε αυτή τη θερμοκρασία, το οξολινικό οξύ ήταν παρόν σε 7 ημέρες αλλά όχι σε 14 ημέρες κατόπιν θεραπείας. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι προτεινόμενες περίοδοι απόσυρσης στην Ιαπωνία για το οξολινικό οξύ θα έπρεπε να επεκταθούν στις 21 ημέρες για την ιριδίζουσα πέστροφα και 14 ημέρες για το ayu.

- **ΠΥΡΟΜΙΔΙΚΟ ΟΞΥ.** Το πυρομιδικό οξύ υπήρξε το αντικείμενο τριών φαρμακοκινητικών μελετών. Ο Katae et al. το 1979a χρησιμοποιώντας βιοανάλυση και αυτοραδιογραφία, βρήκε ότι η απορρόφηση και η διανομή του πυρομιδικού οξέως είναι γρήγορη στο αίμα και στα κύρια συστήματα οργάνων. Στους 25-26°C, έφτασαν οξεία επίπεδα για μόνες δόσεις των 5 mg/kg σε δυο ώρες στο αίμα, στα νεφρά, στο

συκώτι και στον μυ, πέφτοντας στο μισό αυτού του επιπέδου σε 6 ώρες και κάτω των ορίων ανίχνευσης, σε 24 ώρες. Χρησιμοποιώντας στους 14°C ετικετοποιημένα, το πυριμιδικό οξύ παρατηρήθηκε σε όλους τους ιστούς των χρυσόπαρων εκτός από αυτούς του εγκεφάλου και της σπονδυλικής χορδής ανάμεσα σε 1 και 10 ώρες κατόπιν χορήγησης, αλλά είχε εξαφανιστεί από όλους εκτός από το περιεχόμενο του εντέρου στις 24 ώρες. Σε μια περαιτέρω μελέτη, οι Katae, Kouno, Sekine, Hashimoto και Shimizu το 1979b, ανέφεραν ότι η χρήση του ραδιοτυποποιημένου πυριμιδικού οξέως έδειξε ότι τα επίπεδα ιστών από το φάρμακο ήταν τουλάχιστον 1.4-2.2 φορές τόσο υψηλά όσο και αυτά, που ανιχνεύτηκαν από την προηγούμενη βιοαναλυτική μέθοδό τους, αλλά ότι το σχήδιο διανομής ήταν το ίδιο. Οι συγγραφείς έδειξαν ότι η υδροξυλίωση του πυραμιδικού οξέος παρήγαγε α- και β-υδροξυπυρομιδικά οξέα, που βρέθηκαν να κατέχουν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση από το γονικό μείγμα. Και τα δυο, πυρομιδικό οξύ και ο βιοδραστικός μεταβολίτης του, είχαν εξαφανιστεί σχεδόν εντελώς από τα χρυσόπαρα στις 48 ώρες. Στα χέλια στους 25°C, οι Oida, Kuono, Katae, Nakamura, Sekine και Hashimoto το 1982, χρησιμοποιώντας HPLC, βρήκαν οξεία επίπεδα ιστού (12-18 μg/g) από μονές 40 mg/kg δόσεις να συμβαίνουν σε 3-6 ώρες κατόπιν δοσολογίας με μια εξάλειψη μίση ζωή των 4-7 ωρών φτάνοντας το όριο ανίχνευσης των 0.02 μg/g σε 4 ημέρες. Η μεταβλητή μίση ζωή βρέθηκε ότι ήταν αξιοσημείωτα μεγαλύτερη από αυτή του γονικού μείγματος σε 8-18 ώρες. Μια θεραπευτική αγωγή αποτελούμενη από 40mg/kg ανά ημέρα πυρομιδικού οξέος για 7 ημέρες σημαίνει ότι το φάρμακο ήταν ακόμη ανιχνεύσιμο μέχρι και 11 ημέρες κατόπιν θεραπείας.

•ΦΛΟΥΜΕΚΒΙΝΗ: Η μοναδική δημοσιευμένη μελέτη στα φαρμακοκινητικά της φλουμακβίνης ήταν αυτή, που διεξήχθη από τους Chevalier, Gerard, και Michel το 1981, που ερεύνησαν την εκροή της σε ιριδίζουσα πέστροφα 120-150gr στους 12°C χρησιμοποιώντας και βιοαναλυτικές και φασματοφλουριμετρικές μεθόδους. Εξετάστηκαν δυο επίπεδα θεραπείας, 6mg/kg και 12mg/kg και οι δυο για πέντε ημέρες με αποτελέσματα παρόμοια σε μεγάλο βαθμό (εικόνα 1.13). Σε 6 ώρες μετά το τέλος της θεραπείας στα 6mg/kg ο μυς ακόμη περιείχε βακτηριακά επίπεδα, αλλά αυτά είχαν πέσει κοντά στο μηδέν στις 12 ώρες. Τα επίπεδα στο συκώτι ήταν υψηλότερα μέχρι

και 0.9μg/ml στις 6 ώρες σε περίπου 0.2μg/ml σε 72 ώρες. Σε ένα πιο υψηλό επίπεδο θεραπείας η εκροή άρχισε από υψηλότερα επίπεδα, αλλά γενικά όλοι οι ιστοί ήταν ή πλησίαζαν τα όρια ανίχνευσης σε 72 ώρες.

Ανακεφαλαιώνοντας, οι αντιμικροβιακές 4-κβινολονες χαρακτηρίζονται από υπερβολικά χαμηλή τοξικότητα, υψηλή αποτελεσματικότητα σε χαμηλή δόση, γρήγορη απορρόφηση και από στοματικές τεχνικές μπάνιου και εξίσου γρήγορη εξάλειψη.

4.4 ΝΙΤΡΟΦΟΥΡΑΝΕΣ

4.4.1 Δομή και τρόπος δράσης

Οι νιτροφουράνες είναι νιτροετεροκυκλίνες, εκ των οποίων η πρώτη, η νιτροφουραζόνη, εισήχθηκε στην ανθρώπινη ιατρική το 1944. Ο τρόπος της αντιβακτηριακής δράσης αυτών των μειγμάτων αποδόθηκε (Wolff 1979) στην παρεμπόδιση της αρχής της μετάφρασης των δημιουργήσιμων ενζύμων και στην αναχαίτιση της ενζυματικής διόρθωσης νιτροφυρανο-δημιουργούμενων οργανικών βλαβών στο DNA. Αυτός ο αντιβακτηριακός τρόπος δράσης είναι διακριτικά συγγενής στο μοριακό επίπεδο με μια μεταλλοξιογονική ενέργεια των νιτροετεροκυκλικών μειγμάτων (Bambury, 1979), που αναγνωρίστηκε σαν αποτέλεσμα τοξικολογικών μελετών, που ολοκληρώθηκαν στην δεκαετία του '60. Αυτή η ονεογενic δύναμη σημαίνει ότι το ενδιαφέρον στις νιτροφουράνες για αλιευτική χρήση μειώθηκε γρήγορα στα τέλη της δεκαετίας του '70 και η χρήση τους έχει σε μεγάλο βαθμό τώρα εγκαταλειφθεί.

4.4.2 Χρήση και τοξικότητα

Μολονότι οι πρώτες δοκιμές μιας νιτροφουράνης διεκπεραιώθηκε σε ιριδιζουσα πέστροφα από τον Gutsell στις αρχές του 1946, η πρώτη επιτυχία των σουλφοναμίδων ακολουθήθηκε από αυτή της οξυτετρακυκλίνης και η συγκριτικά αναποτελεσματικότητα της νιτροφουραζόνης ενάντια στην δοθιήνωση, σήμαινε ότι υπήρχε λιγιστό ενδιαφέρον σε αυτήν την ομάδα φαρμάκων. Στην συγκριτική τους μελέτη των υποψήφιων φαρμάκων για χρήση ενάντια στο ΒΚΟ, οι Wolf και Dunbar το 1959, ανακάλυψαν ότι παρά την υψηλή αποτελεσματικότητα της στα πειράματα (in vitro), η νιτροφουραζόνη δεν ήταν αποτελεσματική στην πραγματικότητα (in vivo) και πράγματι η χρήση της συνοδευόταν από αυξημένους θανάτους ψαριών.

Ο Post το 1959, ανέφερε προκαταρκτική επιτυχία με την φουροζολιδόνη (σχήμα 1.14) σε εργαστηριακές δοκιμές ενάντια στην δοθιήνωση στην πέστροφα του ποταμού στα 100 mg/kg για 14 ημέρες. Αυτές οι ενδείξεις επιβεβαιώθηκαν σε μια περαιτέρω σειρά μελετών. Οι Post και Keiss το 1962, χρησιμοποιώντας μόνο δυο ζώα ανα

επίπεδο δόσης, δεν ανακάλυψαν τοξικές παρενέργειες στην ιριδίζουσα πέστροφα και στην πέστροφα του ποταμού, οι οποίες ήταν τροφοδοτημένες μέχρι και με 500 mg/kg για 14 ημέρες. Μέχρι τότε η φουραζολιδόνη ήταν υπό δοκιμή σε διάφορα εκκολαπτήρια ψαριών. Τα περισσότερα δεν είχαν προβλήματα τοξικότητας, αλλά σε μερικά είχαν αναφερθεί προβλήματα τοξικότητας ψαριού, που ερχόταν σε αντίθεση με τα εργαστηριακά αποτελέσματα. Στην ίδια μελέτη, οι Post και Keiss βρήκαν ότι δόσεις τόσο χαμηλές όσο τα 10 mg/kg για 14 ημέρες θα μπορούσαν να είναι αποτελεσματικές για τον έλεγχο της δοθιήνωσης στην πέστροφα, αλλά ότι για ολοκληρωτικά αποτελεσματικό έλεγχο και για την παρεμπόδιση της επανεκδήλωσης της ασθένειας, ήταν απαραίτητη μια θεραπευτική αγωγή των 7 - 5mg/kg για 14 ημέρες. Μία εκτενέστερη μελέτη δημοσιευμένη από τον Post το 1962, ήταν περισσότερο προσεκτική προτείνοντας 25mg/kg για 20 ημέρες με 50 mg/kg να είναι αποδεκτά παρόλο που ίσως συναντηθεί αδυναμία αποδοχής.

Στην Ιαπωνία, μια νέα νιτροφουράνη, αρχικά κωδικοποιημένη P-1738 και αργότερα γνωστή σαν νιφουρπρινόλη (Furanace) (σχήμα 1.14), ανακοινώθηκε σε μια περιεκτική μελέτη από τους Shimian και Tokose το 1967, που ανέφεραν ανώτερη in vitro δραστηριότητα ενάντια μιας ευρείας κλίμακας gram- και gram+ βακτηρίων σε σύγκριση με την φουραζολιδόνη και την τετρακυκλίνη. Επιπρόσθετα, ανακάλυψαν σημαντική δραστηριότητα ενάντια στην *Saprolegnia parasitica* και στην *Trichomonas vaginalis*. Σε in vivo δοκιμές με χρυσόψαρα και χέλια μολυσμένα με *Aeromonas salmonicida*, έδειξαν ότι η νιτροφουρπρινόλη ήταν αποτελεσματική με μεθόδους εφαρμογής και στοματικής και μπάνιου σε χαμηλά επίπεδα δόσης. Στους 20°C τα συνεχή λουτρά των 0.3 μg/ml προσέφεραν ολοκληρωμένη προστασία, όπως έκαναν και τα 5 λεπτά μπάνιου στα 30 μg/ml. Τα αποτελέσματα της στοματικής θεραπείας ήταν λιγότερο θεαματικά. Χρυσόψαρα τροφοδοτημένα με 200 mg/kg την ημέρα πριν την ενδοπεριτονεϊκή πρόκληση με *Aeromonas salmonicida*, έδωσε 40% σωτηρία, εκεί όπου 100% του χελιού, τροφοδοτημένο με 100 mg/kg για τις 2 ημέρες μετά την πρόκληση επέζησε την δοκιμή των 5 ημερών. 4 ημέρες LC₅₀ τιμές σε 20°C των 7-9 μg/ml για χέλια και 4.6 μg/ml για χρυσόψαρα ήταν αποφασιστικά. Καμία τοξική παρενέργεια δεν σημειώθηκε σε 30 λεπτά λουτρών των 30 mg/ml ή σε χρυσόψαρα

τροφοδοτημένο στα 200 mg/kg για 3 ημέρες, αλλά το στοματικό LD₅₀ στο χέλι βρέθηκε να είναι 1.780 mg/kg.

Φυσικά, αυτές οι πολύ ευνοϊκές ενδείξεις περιγραφόμενες από τους Takase και Shiimizu το 1967, ξεσήκωσαν το παγκόσμιο ενδιαφέρον στους κύκλους της αλιείας. Στις ΗΠΑ, μελέτες από τους Amend και Ross το 1970 και Amend (1970, 1972), επέδειξαν ότι η νιφουρπρινόλη ήταν αποτελεσματική από μονή εφαρμογή λουτρού ενάντια στην *columnaris* στον *coho salmon* στα 0.5ppm για μια ώρα στους 21°C και από 3 καθημερινά λουτρά των 10ppm για τον έλεγχο άλλων ασθενειών προκλημένων από μέλη της *Cytophagaceae*. Στοματική εφαρμογή της νιφουρπρινίλης (μέχρι και 100 mg/kg) στον έλεγχο της δοθιήνωσης στον *coho salmon*, απέτυχε λόγω προβλημάτων αποδοχής.

Σε αλμυρό νερό καλλιεργητικών λουτρών, η στοματική θεραπεία με νιφουρπρινόλη σε 50 και 75 mg/kg για 14 ημέρες στους 20°C εμφανίστηκε να ελέγχει την βιμπρίωση στον *chinook salmon* χωρίς να συναντούν κανένα πρόβλημα αποδοχής. Παρόλο που απλές θεραπείες λουτρού σε πυκνώσεις άνω των 6ppm παρήγαγαν αυξημένες θνησιμότητες στα *cohos*. Οι Nomura και Shimizu το 1979, καθόρισαν την τοξικότητα της νιφουρπρινόλης στον *chum salmon* και στον γόνο *Kokanee* κάτω από διάφορες συνθήκες εδραιώνοντας 48 ώρες LC₅₀ τιμές να είναι 4.78ppm σε γόνο *chum* 0.38 γραμμαρίων και 2.58ppm σε γόνο *kokanee* 0.92 γραμμαρίων. Οι Mitchell, Grizzle και Plumb το 1980, ερεύνησαν περαιτέρω την τοξικότητα της νιφουρπρινόλης χρησιμοποιώντας γατόψαρο καναλιού, *Ictalurus punctatus*, εκτεθειμένο σε 0.5ppm νιφουρπρινόλης συνεχόμενα για μέχρι και 14 ημέρες. Δερματικές οργανικές βλάβες, που μερικές φορές εξελίχθηκαν σε διάβρωση δέρματος και μυ έλαβαν χώρα σε > 40% του ψαριού. Ένα 96ωρο μέτριο επίπεδο αντοχής για τα λουτρά νιφουρπρινόλης στο γατόψαρο καναλιού, αναφέρθηκε να είναι 0.94ppm. συνέστησαν ένα 2.0ppm μπάνιο των 6.5 ωρών ως αποτελεσματικό για τον έλεγχο της *A. hydrophila* σε γατόψαρο του καναλιού, αλλά αναφέρθηκε η εξέλιξη των ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών της *A. hydrophila* σε in vitro δοκιμές. Τελικά οι Egiohus και Andenden το 1979 ανέφεραν πετυχημένο έλεγχο της βιμπρίωσης σε θαλάσσια ιριδίζουσα πέστροφα εγκλωβισμένη, χρησιμοποιώντας 2.0ppm νιφουρπρινόλης σαν ένα 10λεπτο λουτρό σε θαλασσινό

νερό σε 10°C σε 15°C δεδομένου ότι η θεραπεία ολοκληρώθηκε γρήγορα μετά την μόλυνση.

Τουλάχιστον άλλα 3 φάρμακα νιφουριρινόλης έχουν προταθεί για αλιευτική χρήση, η νιφουπραζίνη, το νάτριο νιφουρστυρενάτης και η νιτροφουραζόνη. Οι Shiraki, Mijamoto, Sato, Sonezaki και Sano το 1970, ανακάλυψαν ότι η νιφουπραζίνη παρεμπόδισε τα *Vibrio*, *Aeromonas* και *Flexibacter* σε in vitro πυκνώσεις τόσο χαμηλές όσο 0.01 με 0.04 µg/ml, δεν υπήρξαν τοξικές παρενέργειες σε χέλι εκτεθειμένο σε 300ppm λουτρό σε 20°C για 30 λεπτά και ανέφεραν, ότι οι προκαταρκτικές δοκιμές με ιαματικά λουτρά νιφουπραζίνης έδωσαν καλό έλεγχο των εργαστηριακών μολύνσεων του χελιού με *Vibrio anguillarum* και *Aeromonas sp.* Οι Sugimoto, Ishibashi και Yone το 1976 ανακάλυψαν ότι οι στοματικές θεραπείες με νάτριο νιφουρστυρενάτης σε 30-100 mg/kg σωματικού βάρους έδωσαν μια αξιοσημείωτη βελτίωση στην επιβίωση των yellowtail εκτεθειμένα σε *pseudotuberculosis* προκεκλιμένη από *Pasturella piscicida*. Η νιτροφουραζόνη έχει βρεθεί να είναι αποτελεσματική για την τοπική θεραπεία των μικρότερων δερματικών οργανικών βλαβών στην *Tilapia oreochromis mossambicus*, στο Λαβράκι και στην τσιπούρα, αλλά είναι αποτελεσματικά για τη θεραπεία της συστημικής βιμπρίωσης σε αυτά τα είδη (Colorni και Paperna, 1983)

4.4.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών και υπολειμμάτων

Οι Heaton και Post το 1968, σε μια μελέτη προορισμένη να βοηθήσει στην κατοχύρωση της νιτροφουραζολιδόνης με της US Food and Drug Administration για αλιευτική χρήση, εξέτασαν την ανάληψη και την εκροή της φουραζολιδόνης από τον μυ της ιριδίζουσας πέστροφας, cutthroat, ποταμού και καφέ. Χρησιμοποιώντας μια μέθοδο φασματοφωτομετρικής ανίχνευσης με ένα αναφερόμενο όριο ανίχνευσης των 0.1ppm, 75-80 γραμμαρίων διατηρημένα σε 8-14°C τροφοδοτούνται με τροφή που περιείχε φουραζονιδόνη σε 35 mg/kg για 20 ημέρες και μετατέθηκε σε διαίτα, που δεν περιείχε φάρμακο. Η φουραζολιδόνη συσσωρεύτηκε σε όλα τα είδη της πέστροφας κατά τη διάρκεια των 20 ημερών φαρμακοληψίας, φτάνοντας τη μέγιστη τιμή των

0.482ppm την δέκατη μέρα στην καφέ πέστροφα. Κατά τη διάρκεια της περιόδου απόσυρσης, τα υπολείμματα που ανιχνεύτηκαν, έπεσαν γρήγορα έτσι που τα μέσα επίπεδα ήταν λιγότερα από 0.075ppm μετά από 10 ημέρες.

Σε αντίθεση με τις περιορισμένες διαθέσιμες πληροφορίες για τα υπολείμματα της φουραζολιδόνης στο ψάρι, οι απόπειρες να συστήσουν την νιφουρπιρινόλη στην αλιευτική χρήση συνοδευόταν από αρκετές μελέτες της ανάληψης και εκροής. Στην πρώτη εργασία πάνω στην νιφουρπιρινόλη, οι Shimizu και Takase το 1967, χρησιμοποίησαν απλές μεθόδους βιοανάλυσης σε χέλια για να δείξουν ότι η ανάληψη της νιφουρπιρινόλης από μπάνια 30 λεπτών αυξήθηκε με αυξανόμενη θερμοκρασία με τις υψηλότερες πυκνώσεις να βρίσκονται στο δέρμα και στο νεφρό. Η εξαφάνιση της νιφουρπιρινόλης από τους ιστούς του χελιού βρέθηκε να είναι τόσο γρήγορη όσο και η ανάληψη, τα επίπεδα κάτω του ορίου ανίχνευσης (0.3ppm στους ιστούς, 0.03ppm στο αίμα), προσεγγίζοντας σε λιγότερο από 5 ώρες μετά από 30λεπτο λουτρό σε 10 µg/ml. Οι Takase Shimizu και Kubota το 1968, έδειξαν ότι η ανάληψη της νιφουρπιρινόλης από χέλια, χρυσόψαρο και yellowtail από φαρμακευτικά μπάνια εξαρτιόταν από τη θερμοκρασία, αυξάνοντας με τον αυξανόμενο χρόνο και την θερμοκρασία. Σε χέλια και yellowtail, η εκροή της νιφουρπιρινόλης ήταν επιβεβαιωμένα γρήγορη (όριο ανίχνευσης προσεγγιστική σε 5 ώρες) και στο χέλι η ανάληψη βρέθηκε να λαμβάνει χώρα σχεδόν ολοκληρωτικά διαμέσω των βραγχίων.

Μελέτες πάνω στην νιφουρπιρινόλη στα σολομοειδή από τον Amend το 1972, που βρήκε πάνω κάτω το ίδιο σχέδιο της γρήγορης ανάληψης από φαρμακευτικά μπάνια από τον *coho salmon*. Τα κορυφαία επίπεδα νιφουρπιρινόλης, ήταν πολύ υψηλότερα στο συκώτι και το νεφρό στους 8°C από ότι στους 20°C λόγω της πιο αργής εκροής παρά της μεγαλύτερης ανάληψης. Το φάρμακο δεν ήταν ανιχνεύσιμο μετά από 24 ώρες στον μυ σε οποιαδήποτε θερμοκρασία, αλλά παρέμεινε ανιχνεύσιμο στο νεφρό για 72 ώρες και στο συκώτι για 9 ημέρες στους 8°C. Η πρακτικότητα των λουτρών νιφουρπιρινόλης για είδη γλωσσών όπως τα *plaiice*, *Dover sole* και *brill* επιδείχθηκε από τους Pearse, Pullin, Congroy και McGregor (1974). Όλες αυτές οι μελέτες χρησιμοποίησαν βιοαναλυτικές μεθόδους για τον καθορισμό των υπολειμμάτων νιφουρπιρινόλης και μέχρι τη στιγμή που οι Otsuka, Horibe, Sugitani και Yamada το

1982 εξέδωσαν μια HPLC μέθοδο με όριο ανίχνευσης του 1.25 ng νιφουριρινόλης, το ενδιαφέρον για την νιφουριρινόλη και σε όλες τις νιτροφουράνες για αλιευτική χρήση χάθηκε στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη λόγω των καρκινογενών πιθανοτήτων αυτών των παρόλα αυτά άξιων αντιμικροβιακών παραγόντων.

4.5 ΧΛΩΡΑΜΦΙΚΕΝΟΛΗ

4.5.1 Δομή και τρόπος δράσης

Η χλωραμφικενόλη (εικόνα 1.16), ένα αντιβιοτικό που παράγεται από το *Streptomyces venezuelae*, κατέχει ένα ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, αλλά είναι σε μεγάλο βαθμό βακτηριοστατικό, παρά βακτηρισιδικό. Στα βακτήρια δρα κυρίως σε 50S ριβοσωμικά μέρη (Hollstein, 1979) δείχνοντας να διαχωρίζει την ριβοσωματική επανατοποθέτηση από την σύνθεση του δεσμού του πεπτιδίου. Σύντομα αφότου συναντήθηκε η εισαγωγή της στην φαρμακευτική αντίσταση και η χρήση της έχει συνδεθεί με την θανατηφόρα δυσκρασία του αίματος, που μπορεί επίσης να οφείλεται στην παρεμπόδιση της σύνθεσης πρωτεϊνών. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, η χρήση του έχει απαγορευτεί αυστηρώς με την πρόθεση της διατήρησης της φαρμακευτικής του διαθεσιμότητας.

4.5.2 Χρήση και τοξικότητα

Μόλις τρία χρόνια μετά την ανακάλυψη της, η χλωραμφικενόλη εξετάστηκε για την αποτελεσματικότητά της ενάντια στις *Pseudomonas hydrophila* και *Aeromonas liquifaciens* από τον Smith (1950). Ο Snieszko et al. το 1952, βρήκε την χλωραμφικενόλη (χλωρομυκετίνη) σε μεγάλο βαθμό αποτελεσματική το ίδιο in vitro και in vivo ενάντια στην *Haemophilus piscium* και *Aeromonas salmonicida*, ειδικά στην εξάλειψη μολύνσεων σε περιόδους επώασης. Αναφέρθηκαν αποδείξεις τερατογενετικών επιδράσεων σε ψάρι από του Anderson και Battle το 1967, οι οποίοι κατέγραψαν επαγωγή ανωμαλιών στα έμβρυα των γονιμοποιημένων αυγών του zebrafish. Παρόλο που οι αντίξοες επιδράσεις της χλωραμφικενόλης στην γονιμοποίηση των θηλαστικών, γρήγορα αναγνωρίστηκαν, δεν διεκπεραιώθηκαν έρευνες των πιθανών επιδράσεων στο ψάρι, μέχρι που ο Kreutzmann το 1977, ανέφερε μέγιστες ενοχλήσεις στην ερυθροποίηση του χελιού μετά από μια μόνο εφαρμογή της χλωραμφικενόλης. Στις ΗΠΑ το χαμηλότερο κόστος της οξυτετρακυκλίνης σήμαινε ότι η χλωραμφικενόλη χρησιμοποιούνταν σχετικά λίγο, αλλά στην Ευρώπη ειδικά

στην καλλιέργεια του κυπρίνου, η χλωραμφικενόλη έγινε ένα δημοφιλές και εκτενώς χρησιμοποιούμενο αντιβιοτικό (Evelyn, 1968).

Ο Schaperclaus το 1958, σε μια εκτενή μελέτη στον έλεγχο της *Aeromonas liquifaciens*, μολυσματική υδρωπικίαση του κυπρίνου, συνέστησε την χλωραμφικενόλη είτε με στοματικές μεθόδους χορήγησης είτε με λουτρά αντί άλλων αντιβιοτικών, όπως η στρεπτομυκίνη και η χλωροτετρακυκλίνη. Έχουν προταθεί αναλογίες δόσης των 50-100mg/kg ψαριού ανά ημέρα για 5-10 ημέρες, καθώς και η καθημερινή προφυλακτική ενδοπεριτονιακή ένεση σαν μια μόνο δόση στα 12mg/kg σωματικού βάρους.

4.5.3 Μελέτες φαρμακοκινητικών

Έχουν δημοσιευθεί αρκετές μελέτες στα φαρμακοκινητική της χλωραμφικενόλης στο ψάρι. Ο Kozlowski το 1964, ανέφερε μέγιστες πυκνώσεις ορού στον κυπρίνο να συμβαίνουν στις 16 ώρες κατόπιν ένεσης στους 12-14°C. Ο Evelyn το 1968, βρήκε επαρκή ανάληψη της στοματικά χορηγούμενης χλωραμφικενόλης (50 mg/kg σε ψάρι μια μόνο τροφοδότηση), στο *coho salmon* και *chinook salmon* με μέγιστα επίπεδα στο συκώτι (52 μg/g), νεφρό (26.6 μg/g) και στον μυ (20 μg/g) στις 3-12 ώρες κατόπιν θεραπείας στους 13-15°C, πέφτοντας γρήγορα μετέπειτα. Ο Lassette το 1972, επέδειξε παρόμοια σχέδια ιστού στην ιριδιζουσα πέστροφα με μόνες στοματικές δόσεις των 100mg/kg χρησιμοποιώντας μια φασματοφωτομετρική ανάλυση (όριο ανίχνευσης 0.6μg/g) και βρήκε σημαντικά υπολείμματα χλωραμφικενόλης σε συκώτι και νεφρό και ανιχνεύσιμα υπολείμματα σε μυ και αίμα, μέχρι και 96 ώρες κατόπιν θεραπείας. Με καθημερινές θεραπείες η χλωραμφικενόλη αποδείχθηκε πως είναι συσσωρευτική στον μυ στις πρώτες έξι ημέρες μιας δήμερης θεραπείας και τα συσσωρευτικά επίπεδα αυξήθηκαν με αυξανόμενη καθημερινή δόση. Η σύντομη συγκριτική μελέτη από την McCracken et al. το 1976 δεν ανίχνευσε την χλωραμφικενόλη στον μυ της πέστροφας πέραν των 8 ημερών μετά από μια μόνη ενδοπεριτονιακή ένεση στους 5°C, αλλά αυτοί οι συγγραφείς δεν εδραίωσαν την ευαισθησία των βιοαναλυτικών τους μεθόδων ή το όριο ανίχνευσης.

5. ΤΟΠΙΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ

Οι εκτοπαρασιτικές συνθήκες έχουν αποδειχθεί ένα συνεχόμενο πρόβλημα στην ιχθυοκαλλιέργεια από τα πρώτα της κιόλας χρόνια. Μερικά από τα πρώτα θεραπευτικά, όπως το αλάτι, η φορμαλίνη και το πράσινο του μαλαχίτη, αποδείχθηκαν ανθεκτικής αξίας, ενώ άλλα έμειναν στο περιθώριο. Έχουν επίσης αποδειχθεί (εκτοπαρασιτικές συνθήκες) μια γόνιμη περιοχή για εξαντλητική χρησιμοποίηση στην βιομηχανία παραγωγής ψαριού, όπου είναι διαθέσιμες αναρίθμητες μορφές και ποικιλίες από ιδιοκατασκευάσματα.

5.1 ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΛΑΧΙΤΗ

Το πράσινο του μαλαχίτη είναι μια διαρυλομέθανη χρωστική ουσία και είναι ένα δυνατό βιοκτόνο που έχει μια καλή διαφορετική τοξικότητα ανάμεσα στα ψάρια και στα περισσότερα εξωτερικά παράσιτα. Μια λεπτομερής αναθεώρηση του πράσινου του μαλαχίτη (Alderman, 1985) επιτρέπει μια σύντομη εξέταση του εδώ. Το μείγμα είναι υψηλά αποτελεσματικό, χρησιμοποιούμενο κανονικά σαν θεραπεία ξέπλησης στο 1.0ppm από μόνο του ή σε συνδυασμό με 20ppm φοραμλίνη του μείγματος -the Leteux-Meyer (Leteux και Meyer, 1972). Ο Alderman το 1985, τόνισε ότι η τοξικότητα του πράσινου του μαλαχίτη στο ψάρι είναι ισχυρά εξαρτώμενο από τη θερμοκρασία, με τον χρόνο διαβίωσης ψαριού να μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού. Δίστανται οι αποδείξεις για επιβλαβείς επιδράσεις στο ψάρι από τις θεραπευτικές αγωγές. Η κύρια χρήση του πράσινου του μαλαχίτη έχει γίνει για τον έλεγχο της ανάπτυξης των μυκήτων και της επώασης των αυγών των ψαριών μολονότι έχουν αναφέρει αυξημένες δυσμορφίες σε πέστροφα που εκκολάπτει αυγά, που έχουν υποστεί θεραπεία με το πράσινο του μαλαχίτη. Τα φιλέτα από γατόψαρο από ζώα, που έχουν υποστεί θεραπεία με το πράσινο του μαλαχίτη, κατεψυγμένα παρατηρήθηκαν να αναπτύσσουν μια πράσινη απόχρωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, κάτι που οδήγησε τους Roe και Wilson το 1983, να ερευνήσουν και να δείξουν την παρουσία υπολειμμάτων του πράσινου του μαλαχίτη. Η πράσινη χρωστικοποίηση των κατεψυγμένων φιλέτων γατόψαρου χρειάστηκε 14-21 ημέρες να αναπτυχθεί, οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι αυτό οφειλόταν στην οξείδωση του πράσινου λευκομαλαχίτη, που βρίσκεται στους ιστούς στην χρωστική ουσία ίον, παρόλο που μια απλή αλλαγή του pH εξαιτίας του "εγκαύματος του burn" προκαλώντας αντιστροφή στην χρωστική ουσία ίον από καρβινολικό (carbinole) ίον είναι μια πιο πιθανή εξήγηση.

Πολύ πρόσφατα οι Clifton - Hadley και Alderman ανέφεραν ότι η θεραπεία με πράσινο του μαλαχίτη σε ιριδίζουσα πέστροφα μολυσμένη με ασθένεια του νεφρού έχει μόνο μια σοφή θεραπευτικά επίδραση στην μόλυνση. Τρεις θεραπείες ξέπλησης με 1ppm πράσινου του μαλαχίτη σε τριήμερα διαλύματα και μια μόνη θεραπεία στα 1.5ppm αποδείχθηκαν αποτελεσματικές σε μολυσμένο ψάρι ευρισκόμενο στο

εργαστήριο μετά από μια πρόκληση πεδίου. Οι συγγραφείς επίσης επέδειξαν ότι το πράσινο του μαλαχίτη συσσωρεύεται γρήγορα σε ψάρι εκτεθειμένο σε τέτοια θεραπεία ξέπλησης έτσι που τα επίπεδα υπολειμμάτων των >5ppm ανιχνεύθηκαν γρήγορα σε 24 ώρες κατόπιν θεραπείας. Υπολείμματα από επαναλαμβανόμενες θεραπείες αποδείχθηκαν συσσωρευτικά.

5.2 ΦΟΡΜΑΛΙΝΗ

Η φορμαλίνη είναι μια κεκορεσμένη (37%) υδατική λύση του φορμαλδεϊδικού αερίου σε νερό και συγχρόνως δρα σαν ένα 100 τοις εκατό ενεργό συστατικό υλικό για σκοπούς διάλυσης. Χρησιμοποιείται σαν ένα μυκητοκτόνο αυγού ψαριού και σαν ένα τοπικό παρασιτισιδικό που εφαρμόζεται με μέσα θεραπείας ξέπλυσης. Η ιστορία της χρήσης του είχε συζητηθεί νωρίτερα. Η χρήση του σαν εκτοπαρασιτικό αναθεωρήθηκε από τον Sichick το 1974, και η συνδυασμένη χρήση του με πράσινο του μαλαχίτη αναθεωρήθηκε από τον Nelson το 1974. Διεξήχθησαν εκτεταμένες έρευνες τοξικότητας, ειδικότερα κατά την διάρκεια της διαδικασίας της εγκαθίδρυσης της φορμαλίνης για αλιευτική χρήση στις ΗΠΑ. Οι Bills, Markina και Chandler το 1977, καθιέρωσαν τιμές 96 ώρες LC_{50} για την φορμαλίνη στους $12^{\circ}C$ για ένα αριθμό διάφορων ειδών ψαριών (11.8ppm για ιριδίζουσα πέστροφα και 17.3ppm για τον σολομό του Ατλαντικού). Για την ιριδίζουσα πέστροφα οι 3 ώρες LC_{50} ήταν 123.0ppm ενώ η κανονική πύκνωση της θεραπείας ξέπλυσης είναι 25ppm. Τοξικότητα αυξανόμενη με αύξουσα θερμοκρασία αλλά δεν ποτήθηκε από τους παράγοντες ποιότητας του νερού, όπως η σκληρότητα. Οι Sills και Allen το 1979, τροποποίησαν μια μέθοδο, που χρησιμοποιούνταν νωρίτερα από τους Castell και Smith το 1973, σε ιστό γάδου, για να δώσει 36-62% ανάρρωσης και ευαισθησία των 5μg/g σε μια απόπειρα να επιδείξουν την φορμαλίνη σε ιστούς ψαριών υπό πειραματική θεραπεία. Οι Sills και Allen ήταν ανίκανοι να επιδείξουν οποιαδήποτε φορμαλίνη σε μυ, συκώτι ή πλάσμα του *coho salmon* εκτεθειμένου σε 300ppm φορμαλίνης για μια ώρα. Η φορμαλίνη έχει καθιερωθεί τώρα στις ΗΠΑ για χρήση εκτροφής ψαριών κατόπιν 12 χρόνων προσπάθειας από την US Fish & Wild life Service. Συνιστάται θεραπεία της πέστροφας, του σολομού, του γατόψαρου και του largemouth bass στα 25ppm σε λίμνες και στα 250ppm για 1 ώρα σε αυλάκι, όπως επίσης και τα 2.000ppm για 15 λεπτά σαν μυκητοκτόνο σε πέστροφα, σολομό και εσοσιδικα (Esocid) αυγά (αφού το πράσινο του μαλαχίτη δεν έχει άδεια εφαρμογής στις ΗΠΑ).

5.3 ΤΕΤΑΡΤΟΤΑΓΗ ΜΕΙΓΜΑΤΑ ΑΜΜΩΝΙΟΥ

Τα τεταρτοταγή μείγματα αμμωνίου, που είναι (cationic) δραστικά με καθαριστική και αντιβακτηριακή δράση εισήχθησαν για τον έλεγχο της βακτηριακής ασθένειας βραγχίων από τον Fish το 1947, που χρησιμοποίησε το Roccal (10% αλκυλομεθυλοβενζυλοαμμωνιακές χλωρίδες) στα 20ppm σε 1 ώρα ιαματικών λουτρών. Πάντως, μερικές παρτίδες από αυτό το εμπορικό προϊόν βρέθηκαν τοξικές στην πέστροφα (Rucker et al., 1949). Η Υαμίνη 3500 (ένα μείγμα από δοδεσυλικά και τετραδεσυλική ομόλογα των αλκυλομεθυλοβενζυλοαμμωνιακών χλωρίδων), μελετήθηκε από τον Hogan το 1969 και έχει λιγότερα προβλήματα τοξικότητας και στα 1 με 2ppm (σαν 100% προϊόν) χρησιμοποιείται συνήθως τώρα και ελέγχει βακτηριδιακά προβλήματα βραγχίων, ειδικότερα μεταξύ ιχθυδίων. Δεν έχουν ανιχνευθεί φαρμακοκινητικές μελέτες.

5.4 ENTOMOKTONA

Τα οργανοφώσφατα εντομοκτόνα όπως η τριχλωροφώνη και η διχλωρόση, έχουν βρει μια θέση στην ιχθυοκαλλιέργεια για τον έλεγχο των μεταζωανικών εκτοπαρασίτων περιλαμβανομένων των *Monogea*, *Digenea* και *Copepoda*. Σε επιχειρήσεις καλλιέργειας θαλασσινού σολομού η χρήση μειγμάτων, όπως η διχλωρίωση μπορεί να είναι μεγάλης σημασίας για τον έλεγχο της ψείρας της θάλασσας (*Argulus*) και των αγχοσκουλικιών (*Lerneae*). Τα οργανοφώσφατα εντομοκτόνα είναι εξαιρετικά τοξικά στα ψάρια και η χρήση τους απαιτεί μεγάλη προσοχή. Εκτενείς αναθεωρήσεις της χρήσης και της τοξικότητας τέτοιων μειγμάτων διεξήχθησαν από τους Hoffman και Mejer το 1974, Herwing (1979) και Johnson και Finley (1980), αλλά είναι ελλιπής η έρευνα πάνω στα υπολείμματα ιστών. Δεν έχουν ανιχνευθεί έρευνες σε οτιδήποτε περιβαλλοντική επίδραση που μπορεί να παράχθηκε από την σχετικά έντονη τοπική χρήση τέτοιων εντομοκτόνων σε επιχειρήσεις θαλάσσιων κλωβών, κατά την διάρκεια της προετοιμασίας αυτής της αναθεώρησης, αλλά σημαντικές επιδράσεις στα ασπόνδυλα, όπως η *crustacean larvae* ίσως είναι αναμενόμενες.

5.5 ΑΛΛΑ ΕΚΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΣΙΔΙΚΑ

Μια ευρεία κλίμακα από άλλα μείγματα έχουν χρησιμοποιηθεί και ευκαιριακά ακόμα χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των εξωτερικών παρασίτων. Αυτά περιλαμβάνουν την χαλκόχροη σουλφάτη (και άλλα χαλκόχρωα μείγματα) ακριφλαβίνη (κοκκώδες στερεό κίτρινου χρώματος με πολύ δραστική αντισηπτική επενέργεια) και το υπερμαγγανικό κάλλιο. Η χαλκόχρους σουλφάτη έχει ιστορία αλιευτικής χρήσης τόσο μεγάλη όσο και αυτή της φορμαλίνης. Η χρήση της σαν αλιευτικό εκτοπαρασιτισιδικό αναθεωρήθηκε από τον Jackson το 1974. Οι δραστικές συγκεντρώσεις και η τοξικότητα του ξενιστή σημειώνεται από την σκληρότητα του νερού. Μείγματα αυτού του τύπου είναι μερικές φορές δραστικά, όπως τα τοπικά παρασιτισιδικά υπό τις κατάλληλες συνθήκες, αλλά έχει γίνει λίγη σύγχρονη έρευνα πάνω σε αυτά.

6. ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΕ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ

Δυο κύριες ομάδες ασπονδύλων είναι σημαντικές στην υδατοκαλλιέργεια, τα μαλάκια και τα καρκινοειδή. Παρόλο που μερικοί από τους ίδιους παθογόνους και μερικά από τα ίδια φάρμακα συναντώνται στην υδατοκαλλιέργεια ασπονδύλων εξίσου, όπως και στην ιχθυοκαλλιέργεια είναι λογικότερο να εμβαθύνει κανείς στο θέμα ξεχωριστά παρά να το εξετάσει σαν ασήμαντο παράρτημα σε συζητήσεις για τα σχετικά φάρμακα.

6.1 ΜΑΛΑΚΙΑ

Οι επιχειρήσεις εκκολαπτηρίων για την παραγωγή νεογνών μαλακίων εκτίθενται συχνά σε σημαντικές απώλειες προνυμφών. Έρευνες τέτοιων απωλειών συχνά έχουν υποδείξει το *Vibrio sp.* (Tubiash, Colwell και Sakazaki, 1970; Elston, Leibovitz, Relyea και Zatila, 1981). Η συνηθισμένη χρήση της χημειοπροφύλαξης από την μορφή των βιμπριοστατικών ή των βιμπριοκτόνων (π.χ. 4-κβινολόνες) στην πραγματικότητα των καλλιεργειών προνυμφών των mollusca δεν είναι ακόμα μια καθιερωμένη πρακτική. Σίγουρα θα υπάρξουν πλεονεκτήματα αν αυτή αποδειχθεί πρακτική.

Πολύ γνωστή ασθένεια, η οποία παρατηρείται στα στρείδια είναι αυτή του επιπέδου οστράκου *Ostrea edulis* προκεικλυμένη από την παρουσία ενός μύκητα, που μεγαλώνει από το στρείδι και ερεθίζει τους ζωντανούς ιστούς του στρειδιού. Η μόλυνση συμβαίνει σε μεγάλο βαθμό από την επαφή και τα ηλικιωμένα μαλάκια όστρακα μπορούν να ενεργήσουν σαν ρεζέρβα μόλυνσης. Ο Koppinga το 1951, επέδειξε ότι βυθίζοντας τα στρείδια σε υδραργυρικό χλωρίδιο θα απολύμανε αποτελεσματικά το όστρακο του στρειδιού από την προσβολή των μυκήτων, χωρίς να βλάψει το ζώο μέσα σε αυτό. Η χρήση των υδραργυρικών στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι τώρα αποδεκτή.

6.2 ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ

Τα άτομα που ανήκουν στην οικογένεια των καρκινοειδών (Crustacea) εκτίθενται σε αρκετές ασθένειες, που είναι επιρρεπείς στην χημειοθεραπεία ή την χημειοπροφύλαξη κάτω από υδατοκαλλιεργητικές συνθήκες. Παρόλο που έχει αναφερθεί ένας αριθμός ασθενειών να είναι κύριας βακτηριακής αιτιολογίας μόνο η γαφκαιμία των οστράκων από το γένος *Homarus* είναι μια πραγματική συστηματική ασθένεια. Προκεκλημένη από ένα γραμμο-θετικό, τετραδο-φορμικό βακτήριο *Aerococcus viridans*, αυτό μπορεί να είναι υπεύθυνο για σοβαρές θνησιμότητες αστακών σε έντονα κρατημένα συστήματα. Οι Stewart και Agie το 1974, ολοκλήρωσαν μια συγκριτική μελέτη αντιβιοτικών για τον έλεγχο της γαφκαιμίας (gaffkaemia), εξετάζοντας την βανκομυκίνη, την πενικιλίνη G, την νοβομπιοσίνη και την οξυτετρακυκλίνη. Βρήκαν ότι η βανκομυκίνη (στα 25mg/kg με ένεση), ήταν πιο αποτελεσματικό αντιβιοτικό για χρήση στους μολυσμένους αστακούς, προσφέροντας καλό έλεγχο, δεδομένου ότι η θεραπεία άρχισε στα αρχικά στάδια της μόλυνσης. Οι Steward και Agie επίσης βρήκαν ότι η βανκομυκίνη παρήγαγε επίμονα υπολείμματα στους ιστούς των αστακών, έτσι ώστε τα υπολείμματα από δόσεις των 25mg/kg ακόμη πρόσφεραν καλή προστασία ενάντια στην γαφκαιμία μετά από 50 ημέρες στους 15°C. Πιο πρόσφατα οι Bayer και Lunt το 1983, ανέφερα πετυχημένη προφύλαξη και θεραπεία για την μόλυνση του *A. viridans* στους αστακούς με στοματική κούρα με οξυτετρακυκλίνη (τετραμυκίνη, Pfizer).

Άλλες βακτηριακές μολύνσεις των δεκάποδων μελών της Crustacea μπορούν να πάρουν δύο μορφές: ασθένεια οστράκου, η οποία αποτελείται από τοπική πρόκληση τρύπας στο επιδερμίδιο ή τοπικές ή γενικές μολύνσεις μέσα στο σώμα. Τέτοιες μολύνσεις είναι συνήθως δευτερεύοντες εισβολές θέσεων του φυσικού ή χημικού τραύματος και κυρίως αφορούν το *Vibrio* spp. παρόλο που η *Pseudomonas* και η *Aeromonas* spp. συνεπάγονται το ίδιο. Η θεραπεία τέτοιων μολύνσεων στην *Penaeid* γαρίδα, έχει αναθεωρηθεί από τον Leighton το 1983. Η οξυτετρακυκλίνη, η χλωραμφικενόλη ή η νιφουριπρινόλη, προστιθέμενο στο νερό της δεξαμενής της προνύμφης και η οξυτετρακυκλίνη ή η νιφουριπρινόλη προστιθέμενη στην διαίτα της

νεαρής και της ενήλικης γαρίδας έχουν αναφερθεί αποτελεσματικές για τον έλεγχο της βακτηριακής ασθένειας του οστράκου (Sindermann, 1977).

Η οξυτετρακυκλίνη έχοντας χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της vibriosis στα άτομα του γένους *Penaeus* στις γαρίδες, έγινε το αντικείμενο μιας μελέτης συσσώρευσης και αποσυμφόρησης φαρμάκου στη λευκή γαρίδα, *Penaeus setiferus*. Ο Corliss το 1979, χρησιμοποιώντας μικροβιολογικές μεθόδους ανίχνευσης, τροφοδότησε γαρίδα σε δίαιτες περιέχοντες 1,000, 5,000, 10,000ppm οξυτετρακυκλίνης και μπόρεσε να ανιχνεύσει το φάρμακο στους ιστούς της γαρίδα μέσα σε 24 ώρες από την έναρξη της θεραπείας. Το μέγιστο επίπεδο ιστού που ανιχνεύθηκε ήταν 1.05ppm σε γαρίδα τροφοδοτημένη με 10,000ppm και υπολείμματα ήταν ακόμα ανιχνεύσιμα σε μια ή δύο τέτοιες ομάδες από γαρίδα σε 14 ημέρες μετά τον τερματισμό μιας 21ήμερης θεραπευτικής αγωγής. Σε χαμηλότερης συγκεντρώσεις τροφοδότησης οξυτετρακυκλίνης, δεν ανιχνεύτηκαν καθόλου υπολείμματα στις 14 ημέρες κατόπιν θεραπείας. Προτείνοντας μια θεραπευτική αγωγή των 5,000ppm οξυτετρακυκλίνης για 14 ημέρες, ο Corliss το 1977, πρότεινε μια περίοδο απόσυρσης 10 ημερών.

Οι El Gamal, Alderman, Rodgers, Polglase και Macintosh το 1986, εξέτασαν τις επιδράσεις του οξολινικού οξέος με την παρουσία της *Aeromonas hydrophila*. Ιαματικά λουτρά διάρκειας μιας ώρας με 10ppm οξολινικού οξέος έλεξαν τις τροποποιημένες περιπτώσεις της ασθένειας οστράκου και τα επιπρόσθετα ιαματικά λουτρά μπορούσαν να ελέγξουν περισσότερο σοβαρές περιπτώσεις τα βακτηριακά επιβιώνουν π.χ. *Lencothrix* σε παλαιίμωνες γλυκού νερού, μπορεί εάν είναι ευεπηρεάστη επίσης να ελεγχθεί χρησιμοποιώντας αυτόν τον τύπο αντιμικροβιακού διαλύματος (Sindermann, 1977). Η πρακτικότητα του να ελέγχεις βακτηριακές ασθένειες "μελών" των crustacea έχει επιδειχθεί επαρκώς και ίσως υπάρξουν τώρα αίτια για ενδιαφέρον στην πιθανότητα υπερβολικής χρήσης αντιμικροβιακών παραγόντων σε μερικές περιοχές, που υπάρχουν δυνατότητες καλλιέργειας crustacean κάτι που θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικά προβλήματα αντοχής.

Οι παθογενείς με μύκητες είναι ένα σημαντικό πρόβλημα στην καλλιέργεια των θαλάσσιων crustacean, *Lagendium callinectes* με αυγά και προνύμφες και των

Heliphthoros milforden με αυγά, προνύμφες και νεαρά. Έχουν γίνει αρκετές μελέτες για να επιλεχθούν τα σωστά μυκητοκτόνα και το πράσινο του μαλαχίτη και η μυφουρπιρινόλη βρέθηκαν και τα δύο αποτελεσματικά (Lio - Po, Baticados, Lavilla και Sanvictores, 1985). Ειδικότερα το πράσινο του μαλαχίτη έχει χρησιμοποιηθεί πειραματικά για να ελεγχθεί και ο παθογενικός μύκητας και η επιβίονια με κάποια επιτυχία στα αυγά και στα προνυμφικά στάδια των αστακών (Fisher, Rosemark και Shleser, 1976). Ο Boghen το 1986, έδειξε ότι ενώ οι εκθέσεις των μέχρι και 900ppm σε πράσινο του μαλαχίτη για 10 λεπτά είναι ασφαλείς με ενδοτριχορροϊκη κατάσταση (14) αστακού, ζώα σε προ-έκδυση και έκδυση ήταν υπερβολικά ευεπηρεάστα στο πράσινο του μαλαχίτη.

Εκτός των πρωτόζωων επιβιόντων, μέλη των Microsporida, όπως τα *Nosema* και *Thelohania* είναι υπεύθυνα για σοβαρές συστηματικές μολύνσεις των crustacea-cotton γαρίδων και της πορσελάνης ασθένειας. Η Buquinolate (επίπεδα θεραπείας μη εδραιωμένα), μια υποκατάστατη κβονολίνη, βρέθηκε αποτελεσματική στην μείωση μικροσποριδιακών μολύνσεων στον μπλέ κάβουρα (Overstreet, 1975), αλλά δεν έχουν δημοσιευθεί περαιτέρω μελέτες.

7. ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΑ

Τα αναισθητικά δεν είναι χημειοθεραπευτικά με την έννοια των όλων σχεδόν υπολοίπων μειγμάτων, που συζητήθηκαν σε αυτήν την ανασκόπηση, αλλά η χρήση των αναισθητικών που χορηγούνται στα ψάρια είναι σχετική με ένα μεγάλο θέμα αυτής της ανασκόπησης, ονομαστικά το πρόβλημα των υπολειμμάτων των μειγμάτων που εφαρμόζονται στα ψάρια, που μπορεί να επιμείνει στο πτώμα να γίνει ένα υπόλειμμα και ως εκ τούτου ένα δημόσιο πρόβλημα υγείας. Τα ψάρια αναισθητοποιούνται για να απεκδεθούν και σε μερικές περιπτώσεις για μεταφορά σε τεράστιους αριθμούς. Τα ταιριαστά μείγματα πρέπει να είναι γρήγορα στην ανάληψη και επιδράσεις και ως εκ τούτου είναι πιθανό να είναι και γρήγορα εκχουόμενα.

Οι Marking και Meyer το 1985, αναθεώρησαν την προβληματική περιοχή των αναισθητικών, παρουσιάζοντας τα αποτελέσματα μιας έρευνας συντιθημένης μεταξύ 183 εργατών ιχθυοτροφείου στην βόρειο Αμερική. Τα τρία δημοφιλέστερα αναισθητικά ήταν το MS222 (τρικαϊνή μεθανησολφονάτη), κβιναλδίνη και διοξείδιο του άνθρακα, με χυμό καπνό χρησιμοποιούμενο από ένα ατομικό σταθερό. Παρόλο που το MS222, έχει άδεια για χρήση με τροφή στις ΗΠΑ έχει επιβληθεί μια 21ήμερη περίοδος απόσυρσης που παρουσιάζει ανυπέρβλητα προβλήματα στην χρήση του στον σολομό του Ειρηνικού, που συνήθως αναισθητοποιούνται προτού ωοτοκηθούν. Πτώματα τέτοιων ζώων μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο σαν γεύμα ψαριού για τροφή του fry σολομού και fingerlings.

Οι Allen και Sills (1970a,b) ανέφεραν για τα GLC και UV-σπεκτροφωτομετρικές μεθόδους για αναγνώριση των υπολειμμάτων κβιναλδίνης και οι Allen, Luhnig και Harman το 1970, ανέπτυξε μια μέθοδο TLC ειδικά για το MS222. Ο Hunn το 1970, δουλεύοντας με 11 είδη ψαριών φρέσκου νερού, βρήκε εύκολα ανιχνεύσιμα επίπεδα του MS222 στο αίμα όλων των ειδών, που εξετάστηκαν μέσα σε 1 λεπτό έκθεσης και σε 7 από αυτά τα είδη η συγκέντρωση εγκεφάλου υπερέβαλε από αυτή του αίματος μέσα σε ένα λεπτό.

Ο Luhnig (1974a), ανέπτυξε περαιτέρω τη μέθοδο MS222 σε μια σπεκτροφωτομετρική τεχνική θέτοντας ικανή της κβαντική εκτίμηση του 1.0μg/g του

MS222 ή του μεταβολικού του m-αμινοβενζολικού οξέος και μετά επέδειξε (Luhning, 1974b), ότι στους ομογενοποιημένους κατεψυγμένους αποθηκευμένους ιστούς ψαριού (γδαρμένη πέρκα) θανατωμένα μετά από 30λεπτη αναισθησία με 100ppm MS222, τα υπολείμματα ήταν μετατρεμμένα σε 100% m-αμινοβενζικό οξύ. Η κβιναλδίνη σουλφάτη εξελίχθηκε και μελετήθηκε εκτενώς (Allen και Sills, 1970a,b; Marking και Dawson, 1973; Gilderhus, Berger, Sills και Herman, 1973a; Sills, Allen, Herman και Luhning, 1973b).

Παρά αυτές τα προβλήματα αυτής της ανυδιασμένης μεθόδου σε οικονομία και ποιότητα αναισθησίας, δεν χρησιμοποιήθηκε από κανένα από τους εργάτες που ρωτήθηκαν στους Markings και Meyer (1985). Ο τελευταίος ανέφερε ότι περαιτέρω μελέτες είχαν δείξει ότι υπολείμματα του MS222 στα εδάσματα μέρη της ιριδίζουσας πέστροφας είχε μειωθεί σε χαμηλότερα όρια ανίχνευσης (0.1ppm) μέσα σε 24 ώρες αναισθησίας.

Εκτός του MS222 που είναι καθιερωμένο για χρήση τροφής ψαριού, το διοξείδιο του άνθρακα επιτρέπεται για τέτοια χρήση από απαλλαγή στις ΗΠΑ (Marking και Meyer, 1985), αλλά δεν φαίνεται (σε βάση επιστημονικού τουλάχιστον ενδιαφέροντος) να έχει κερδίσει αρκετή δημοφιλία πουθενά αλλού. Η κβιναλδίνη παραμένει σχετικά δημοφιλής από οικονομική άποψη. Η χρήση των αναισθητικών στα ψάρια δεν παρουσιάζει σημαντικό πρόβλημα υπολείμματος, αφού γενικά τα ψάρια δεν σκοτώνονται μετά από την αναισθησία και μια επαρκής περίοδος μπορεί να επιτραπεί προτού την σφαγή.

8. ΥΠΟΛΛΕΙΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΔΟΙ ΑΠΟΣΥΡΣΗΣ - ΜΙΑ ΚΡΙΤΙΚΗ

Η φιλολογία της χημειοθεραπείας είναι εκτενής και έχει συζητηθεί στο κυρίως μέρος αυτή της μελέτης. Μια προσεκτική ανασκόπηση αυτής της φιλολογίας αποκαλύπτει μια αναπόφευκτη πρόοδο από τα προγενέστερα χρόνια στα οποία η έρευνα οδηγούνταν αποκλειστικά προς την εξέταση των νέων φαρμάκων, ώστε να καθορίσει την αξία τους στον έλεγχο της ασθένειας, προ ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον στην προοπτική δημόσια υγεία και τα περιβαλλοντικά προβλήματα που απορρέουν από τη χρήση των αντιμικροβιακών παραγόντων στο υδάτινο περιβάλλον.

Αυτές οι παράλληλες εξελίξεις στο γενικό πεδίο των φαρμακευτικών, όπου σήμερα υπάρχουν εξαντλητικές απαιτήσεις που πρέπει να ικανοποιηθούν προτού τα νέα φάρμακα μπορούν να εισαχθούν ή να υπάρξουν από τη στιγμή που επιβεβαιώθηκαν για της τρέχουσα τους χρήση. Στην υδατοκαλλιέργεια, αυτό είναι ίσως το περισσότερο έκδηλο στην Αμερικάνικη φιλοσοφία (βιβλιογραφία), κάτι που δείχνει ότι την περίοδο ανάμεσα στα 1945 και 1955 σημαντικότερα χημειοθεραπευτικά, όπως η σουλφαμεραζίνη και η οξυτετρακυκλίνη βρήκαν τον τρόπο τους στις ιχθυοκαλλιέργειες μέσα σε δύο ή τρία χρόνια από την εισαγωγή τους στις φαρμακευτική χρήση. Αντιθέτως, κατά την περίοδο μετά τα 1970, η καθιέρωση ακόμη και των βασικών μειγμάτων, όπως η φορμαλίνη χρειάστηκε προσπάθειες δύο χρόνων από μέρους της US Fish & Wildlife Service, μόνο μια προοπτική σουλφοναμίδη έγινε διαθέσιμη το 1985 και καμία 4-κβινολόνη δεν καθιερώθηκε ακόμη.

Είναι μοιραίο λοιπόν ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον να έχει εξελιχθεί σε ανάληψη, διανομή και εκροή φαρμάκων σε ιστούς καλλιεργούμενων ψαριών για να ικανοποιηθούν οι απαιτήσεις για άδεια ή καθιέρωση σε ότι αφορά την ασφάλεια και τα υπολλείματα. Η επιλογή του αποδεκτού υπολείματος και των ορίων απόσυρσης είναι ένα συνεχές πρόβλημα που δεν μπορεί να τάκτοποιηθεί εύκολα. Σταθερά προόδευαν οι τεχνικές για την αναγνώριση των αντιμικροβιακών παραγόντων σε ιστούς ζώων, θέτοντας ικανή την ανίχνευση των όλο και χαμηλότερων επιπέδων υπολειμμάτων. Αυτό με τη σειρά του σημαίνει ότι οι ιστοί που προηγουμένως δεν θα είχαν δείξει ανιχνεύσιμα υπολλείματα φαρμάκου τώρα μπορούν καθαρά να δείξουν ότι έχουν των

παρουσία φαρμάκου καθώς το όριο της ανίχνευσης μειώνεται. Θα πρέπει να παραμείνει αποδεκτή η προηγούμενα αποδεκτή περίοδος ή θα πρέπει να τεθεί μια νέα περίοδος απόσυρσης. Εάν τεθεί μια νέα περίοδος είναι πρακτικό να τεθεί σε εφαρμογή. Ακριβώς ποια είναι η σημασία οποιουδήποτε ρίσκου από τα υπολλείματα ελάχιστα υπολλείματα αντιμικροβιακών παραγόντων σε οποιοδήποτε φαγητό.

Αφήνοντας στην άκρη τα προβλήματα επιλογής αποδεκτών επιπέδων υπολειμμάτων υπάρχουν περαιτέρω δυσκολίες συσχετισμένες με το γεγονός ότι τα υπολλείματα που εμπλέκονται είναι στα ψάρια, που είναι ποικιλοθερμικά ζώα των οποίων η μεταβολική δράση σε μεγάλο βαθμό καθορίζεται από την συνεχώς μεταβαλλόμενη θερμοκρασία του περιβάλλοντος νερού. Άλλες φιγούρες του φυσικού περιβάλλοντος, όπως το pH, η σκληρότητα του νερού, επίσης θα παίξουν ένα ρόλο πολύ μεγαλύτερο στον καθορισμό της απόδοσης οποιαδήποτε φαρμάκου στα ψάρια σε σύγκριση με τα ζώα της ξηράς. Η προοπτική της έκχυσης των φαρμάκων διαμέσου του δέρματος και / ή των επιφανειών των βραγχίων είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτές των ισότιμων επιφανειών στα ζώα της ξηράς.

Υπάρχει, λοιπόν ένας διόλου ευκαταφρόνητος αριθμός περιπλοκών παραγόντων που κάνει αυτή την μελέτη των φαρμακοκινητικών στα ψάρια έμφυτα δυσκολότερη από ότι στα θηλαστικά. Οι εργάτες με τα ψάρια πάντως, έχουν ένα μεγάλο πλεονέκτημα - την χαμηλή τιμή των οργανισμών ατομικά, που καθιστά οικονομική την χρήση των σχετικά μεγάλων μεγεθών δείγματος σε τέτοιες κινητικές μελέτες. Οι παρατηρήσεις που ακολουθούν στην παρούσα κατάσταση γνώσης των φαρμακοκινητικών των ψαριών γίνονται έχοντας υπ' όψιν τα παραπάνω.

Αρκετή από τη δημοσιευμένη έρευνα στα υπολλείματα φαρμάκου θα επικριθεί από αρκετές απόψεις. Καμία από μόνη της δεν είναι αντικείμενο όλων των προβλημάτων που καταχωρούνται παρακάτω, αλλά αρκετές είναι αντικείμενο περισσότερων του ενός.

Τα κύρια θέματα είναι:

1. Ανεπαρκές μέγεθος δειγμάτων.
2. Με επιβεβαιωμένη μέθοδος καθορισμού υπολείμματος.
3. Μη καθορισμένα με πραγματικούς όρους υπολείμματα.

4. Καμία πραγματική απόπειρα υπολογισμού του ρόλου και της κλίμακας των ατομικών μεταβολών μεταξύ των ψαριών σε δείγματα.

5. Έλλειψη ελέγχου των πειραματικών θερμοκρασιών.

6. Πειράματα διεκπεραιωμένα σε θερμοκρασίες ασυσχέτιστες με αυτές στις οποίες θα χρησιμοποιούνται κανονικά το φάρμακο.

7. Ανεπαρκής περιγραφή των ψαριών, που χρησιμοποιούνται.

8. Παρεκτάσεις σε περιοχές πέρα των ορίων των στοιχείων.

Το υπόβαθρο στα σημαντικότερα θέματα από αυτά υπολογίζεται πιο λεπτομερώς παρακάτω, αλλά χωρίς να επιλεγθεί η εργασία κάποιου ερευνητή ατομικά για συγκεκριμένη επίκριση.

1. Μέγεθος δείγματος. Εφόσον τα περισσότερα είδη ψαριών είναι σχετικώς φτηνά πειραματοζώα (ακόμα και ο ενήλικας σολομός δεν συγκρίνεται σε αξία με το κοπάδι για παράδειγμα) και απαιτούν ένα περιορισμένο σχετικά διάστημα, είναι δύσκολο να βρεθεί δικαίωση για τον βασισμό μιας εκτενούς σειράς πειραμάτων στη χρήση των από μόνων τους, μη αντί - replicated μεγεθών δείγματος μικρών τόσο μικρών, όσο τρία ψάρια, όταν υπολογίσιμα ψάρια στην μεταβολή ψαριού είναι έκδηλα στα αποτελέσματα. Σε μια μεγάλη μελέτη με συχνά δειγματικά θέματα, δείγματα των πέντε ψαριών, προτιμητέων με τουλάχιστον δυο αντίγραφα, μπορεί να είναι αποδεκτά. Ένα δείγμα των δέκα ψαριών από μόνο του είναι επίσης μια αποδεκτή προσέγγιση του προβλήματος και έχει εφαρμογή σε μερικές από τις καλύτερες μελέτες. Σε εξάρτηση με την χρησιμοποιούμενη μέθοδο ανίχνευσης υπολείμματος, τα μεγάλα δείγματα μπορεί να είναι δύσκολα και / ή απρόσιτα ακριβά σε υλικά ή εργασία στην διαδικασία πάντως, τραβώντας ιστούς από αρκετά ζώα πριν την διαδικασία, μπορεί να γίνει ένας μεγαλύτερος δειγματισμός από την κλίμακα των μεταβολών σε ένα πληθυσμό ψαριών σε σχέση με το φάρμακο μετά από εξέταση χωρίς αυξανόμενα έξοδα πειράματος.

2. Επιβεβαίωση της μεθόδου. Η πλειοψηφία των συγγραφέων των μελετών στα φάρμακοκινητικά των ψαριών παρέχει αρκετές πληροφορίες, ώστε να μπορέσουν οι πειραματικές μέθοδοι να αντιγραφούν από τους αναγνώστες τους. Πολλές από τις μεθόδους, που έχουν χρησιμοποιηθεί, είναι δεδομένες μέθοδοι για τα φάρμακα που

θεωρούνται τροποποιημένα (ή όχι) για χρήση με τα ψάρια. Πάντως, για να έχουν τα αποτελέσματα, που έχουν αποκτηθεί με αυτές τις μεθόδους πραγματικό νόημα με την έννοια των υπολειμμάτων φαρμάκου στους ιστούς του ψαριού είναι απολύτως απαραίτητη κάποια ένδειξη της απόδοσης της μεθόδου στον ιστό του ψαριού που για το οποίο ο λόγος, καθώς επίσης και οι συγκεκριμένες συνθήκες του εργαστηρίου του συγγραφέα. Αρκετού συγγραφείς αποτυγχάνουν να το παρέχουν αυτό, παρόλα αυτά εκτός και αν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία, που ενδεικνύουν το ποσοστό του φαρμάκου, που ανιχνεύτηκε όταν η προκειμένη μέθοδος χρησιμοποιείται σε παρόμοιους ιστούς στους οποίους έχει προστεθεί μια γνωστή συγκέντρωση του φαρμάκου, τα επίπεδα των υπολειμμάτων που αναφέρονται στα πειράματα των συγγραφέων στην πραγματικότητα δεν σημαίνουν τίποτα. Έχοντας υπ' όψιν των ακτίνα διαφορετικών ψαριών, τους ιστούς των ψαριών και τα φάρμακα που σχετίζονται, μια σύντομη δήλωση όσον αφορά της ευαισθησία της μεθόδου, που παρέχουν μερικοί εργάτες δεν επαρκεί για να καταστήσει ικανή μια σωστή εκτίμηση της σημασίας των αποτελεσμάτων.

3. Ποσοτικά μη καθορισμένα υπολείματα. Με βιοαναλυτικές μεθόδους είναι δυνατό να ανιχνεύσει κανείς την παρουσία του φαρμάκου χωρίς να κάνει την προσπάθεια να καθορίσει την ποσότητα του φαρμάκου που ανιχνεύτηκε. Μελέτες αυτού του τύπου μία μόνο και αν συνεισφορά έχουν να κάνουν στην μελέτη των υπολειμμάτων φαρμάκου και στις περιόδους απόσυρσης στα ψάρια.

4. Παραλλαγή από ψάρι σε ψάρι. Αυτό είναι ένα πρόβλημα συνδεδεμένο με αυτό της επιβεβαίωσης της μεθόδους και με το μέγεθος δείγματος. Ακόμη και αν παρουσιαστούν επαρκή στοιχεία σχετικά με την ευαισθησία της μεθόδου ανίχνευσης του φαρμάκου, θα πρέπει να γίνει κάποια προσπάθεια τουλάχιστον να καθοριστεί η ακτίνα παραλλαγής της ανάληψης και έκχυσης που θα γινόταν στο ψάρι υπό εξέταση. Υπολογισμοί παραλλαγή μεταξύ ψαριών μπορεί να δώσει καλή αιτιολογία για θέσπιση συντηρητικών περιόδων απόσυρσης. Αυτό δεν σημαίνει πως θα πρέπει να θεσπιστούν τέτοιοι συντηρητικοί περίοδοι ώστε να καλυφθούν οι ανεπάρκειες στα στοιχεία για την παραλλαγή, τέτοια στοιχεία θα έπρεπε να αποκτηθούν.

5. και 6. Έλεγχος της θερμοκρασίας. Τα πειράματα που συντάχθηκαν χωρίς έλεγχο της θερμοκρασίας μπορεί κατά κάποιο τρόπο να έχουν σχέση με αυτό που θα μπορούσε να συμβεί υπό φυσικές συνθήκες, αλλά δεν παρέχει καμία βάση για καθορισμό των επιδράσεων της θερμοκρασίας στα κινητικά του φαρμάκου περί του οποίου ο λόγος. Ισότιμα, τα πειράματα του ολοκληρώθηκαν στο νερό με ανεπαρκή έλεγχο θερμοκρασίας μπορεί να έχει μόνο περιορισμένη αξία. Δυστυχώς πολλά πειράματα υπολείμματος έχουν αυτή την αποτυχία, ίσως γιατί λίγα εργαστήρια έχουν επαρκείς δυνατότητες για ακριβή διατήρηση της θερμοκρασίας νερού. Εάν καθώς προτάθηκε από μερικούς εργατές, μια αύξηση 1°C στη θερμοκρασία νερού μπορεί να έχει αποτέλεσμα σε μια 10% αύξηση στο μεταβολισμό, η ποσοτικά καθορισμένη προοπτική για σύγκριση προκεκλυμένη από ανεπαρκή έλεγχο των πειραματικών θερμοκρασιών είναι έκδηλη.

Θερμοκρασίες στις οποίες ολοκληρώνονται τα πειράματα χρειάζονται καθαρά επίσης να έχουν σχέση με θερμοκρασίες στις οποίες χρησιμοποιούνται συνήθως τα φάρμακα. Έτσι, τα πειράματα που έγιναν πάνω στην επιμονή του υπολείμματος στο σολομοειδές (salmonide) ψάρι στους 5°C έχουν λίγη πραγματική σχέση όταν τα φάρμακα από έρευνα χρησιμοποιούνται συνήθως σε θερμοκρασίες κάτω των 15°C. Στο Ηνωμένο Βασίλειο η βιομηχανία καλλιέργειας πέστροφας, για παράδειγμα, μέχρι την σχετικά πρόσφατη διάδοση της εντερικής redmouth ασθένειας, η χρήση των αντιμικροβιακών παραγόντων ήτα ασήμαντα σε θερμοκρασίες νερού υπό των 15°C.

7. Ανεπαρκή περιγραφή των χρησιμοποιούμενων ψαριών.

Μια αναμφίβολα σημαντική πηγή της πειραματικής παραλλαγής πρέπει να βρίσκεται στο μικροβιολογικό στέλεχος του χρησιμοποιούμενου ψαριού. Δεν υπάρχουν δεδομένα εγγενή στελέχη ψαριού ισότιμου με τον "εργαστηριακό αρουραίο" διαθέσιμο για χρήση των ερευνητών κάτι που θα μείωνε, αν δεν εξουδετέρωνε αυτή την περιοχή, με έρευνες για την ιριδίζουσα πέστροφα πολύ λίγα δημοσιευμένα φύλλα φτάνουν μέχρι και να ενδείξουν το "μικροβιακό στέλεχος" του *Salmo gairdneri* που χρησιμοποιήθηκε.

Ένα από τα κύρια προβλήματα που σημειώθηκαν στην προετοιμασία αυτής της αναθεώρησης είναι η ακτίνα των ειδών ψαριού στα οποία έχουν γίνει τα κινητικά

πειράματα. Στην Β. Αμερική αρκετά είδη σολομού, πέστροφας και γατόψαρου είναι πρωτεύοντος υδατοκαλλιεργητικού ενδιαφέροντος, στην Ευρώπη το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στον κυπρίνο, στην ιριδίζουσα πέστροφα και στο σολομό του Ατλαντικού (και στο γλυκό και στο αλμυρό νερό), ενώ στην Ιαπωνία μια πολύ εκτεταμένη ακτίνα ψαριού, θαλασσινού και γλυκού νερού έχουν γίνει το αντικείμενο μελέτης. Αναπόφευκτα, κανένα φάρμακο από μόνο του δεν έχει ερευνηθεί σε περισσότερα από μερικά από τα σημαντικά είδη ψαριού και σε αρκετές περιπτώσεις, τα είδη που χρησιμοποιούνται σε έρευνες φαίνονται να έχουν χρησιμοποιηθεί για λόγους ευκολίας. Αυτό, μαζί με την ακτίνα των φυσικών και των περιβαλλοντικών συνθηκών, που χρησιμοποιούνται από τους διαφορετικούς ερευνητές σημαίνει ότι οποιαδήποτε πραγματική σύνθεση από τις διαφορετικές έρευνες είναι απίθανο. Είναι πάντως αρκετά ξεκάθαρο ότι η τρέχουσα γνώση των προβλημάτων των υπολειμμάτων των αντιμικροβιακών παραγόντων στο ψάρι είναι ακόμη πολύ περιορισμένο.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ιστορία της χρήσης των χημειοθεραπευτικών στην ιχθυοκαλλιέργεια έχει αναμφίβολα επιτυχίες. Εάν τα χημειοθεραπευτικά δεν είχαν γίνει διαθέσιμα είναι απίθανο να μπορούσαν να υπάρχουν οι έντονες βιομηχανίες ιχθυοκαλλιέργειας της Β. Αμερικής, Ευρώπης και Ιαπωνίας στην παρούσα μορφή τους. Όπως αποδείχθηκε σε αυτή την αναθεώρηση, υπάρχει πλήθος προβληματικών περιοχών που πρόσφατα γίνονται όλο και πιο έκδηλες. Αυτά περιλαμβάνουν τα αυξανόμενα νομικά περιοριστικά στη χρήση και υπολειμμάτων φαρμάκων στο ψάρι, αναφορές αυξανόμενων αριθμών περιπτώσεων αντίδρασης στα κύρια φάρμακα από τα παθογενετικά βακτήρια του ψαριού και αυξανόμενο υπολογισμό των προοπτικών περιβαλλοντικών και δημόσιων προβλημάτων υγείας που μπορεί να προέλθουν από την τωρινή εκτεταμένη χρήση των αντιμικροβιακών παραγόντων στα ιχθυοτροφεία.

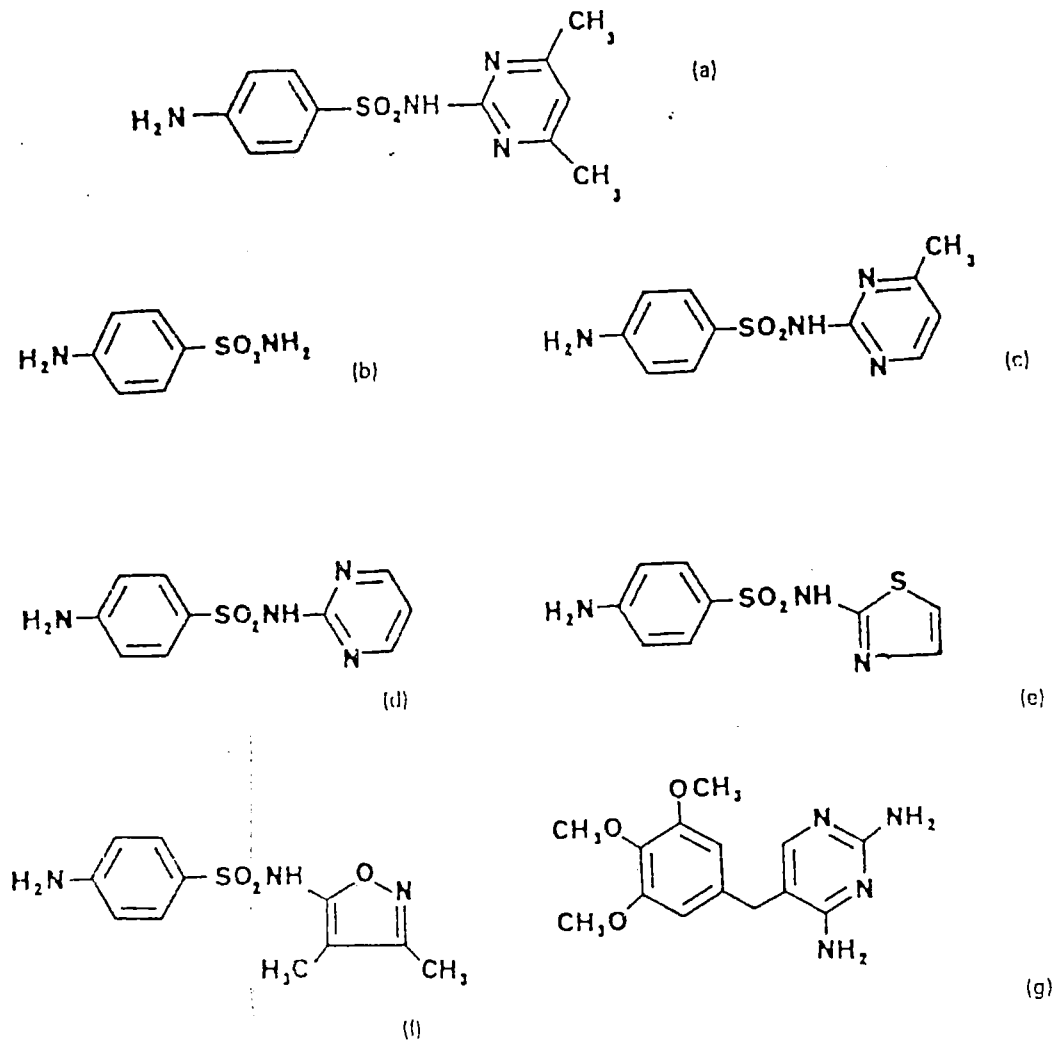
Εάν είναι να συνεχιστεί η πετυχημένη χρήση των χημειοθεραπευτικών στα ιχθυοτροφεία, η έρευνα θα πρέπει αυξανόμενα να οδηγείται σε αυτά τα νέα προβλήματα. Η αναρμόζουσα χρήση οποιουδήποτε φαρμάκου είναι μια αντιοικονομική πρακτική και αν δεν επιτευχθούν τα θεραπευτικά επίπεδα, προσκαλείται η εξέλιξη της αντίστασης φαρμάκων στους οργανισμούς που βρίσκονται σε ιατρική θεραπεία. Το αυξανόμενο κόστος ικανοποίησης των απαιτήσεων που τώρα υποχρεωτικά πρέπει να έχουν άδεια ή κατοχύρωση σε όλο και περισσότερες χώρες θα σημαίνει ότι η εισαγωγή νέων χημειοθεραπευτών αλειών θα γίνει ένα όλο και λιγότερα συχνό συμβάν και θα χρειαστούν αυξημένες προσπάθειες για να σιγουρευτεί η συνεχής αποτελεσματικότητά των πρόσφατα διαθέσιμων ακτίνων των αντιμικροβιακών παραγόντων.

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Albert, A. (1979) Selective toxicicy: the physico chemical basis of therapy, 6th edn. Capman and Hall, London, 66p.
- Aldreman, D.J.. (1985) Malachite green: a review. J. Fish Dis., 8, 289-98
- Allen, J.L. and Hunn, B.J. (1986) Fate and distribution studies of some drugs used in aquaculture. Vet. Human Toxicol., 28, Suppl. 1, 21-4.
- Allen, J.L., Luhning, C.W. and Harman, P.D. (1970) Identification of MS222 residues in selected fish tissues by thin layer chromatography. Invest Fish Control, 41,1-7
- Allison, L.N. (1958) Variation in strength of pyridyl mercuric acetate technical and its effect on rainbow trout. Prog. Fish-Culturist, 19, 108 -11
- Amend, D.F. (1970) Myxobacterial infestions of salmonids: prevention and treatment. Am. Fish. Soc. Spec.Pub., 5, 285 - 65
- Amend, D.F. (1972) Efficacy, toxicicy and residues of nifurpirinol in salmonids. Bureau Sport Fish. Wildl. Tech. Paper, 62, 10 - 13
- Anderson P.O. and Battle, H.I. (1967) Effects of chloramphenicol on the development of the zebrafish *Brachydanio rerio*. Can. J. Zool., 45, 191 - 204
- Austin, B. (1984) The control of bacterial diseases by antimicrobial compounds. In M. Woodbine (ed.), Antimicrobials and agriculture, Butterworths, London, pp.255 - 68
- Austin B., Reymont, J. and Alderman, D.J. (1983) Control of funcations by oxolinic acid. Aquaculture, 31, 101 - 8
- Bambury, R.E. (1979) Synthetic antibacterial agents. In M.E. wolff (ed.) Burgers medicinal chemistry, 4th edn. Wiley Interscience, New York, 1302pp.
- Bayer, R.C., Reno, P.W. and Lunt, M.W. (1983). Terramycin as a chemotherapeutic or chemoprophylactic agent against glaffkemia in the American lobster. Prog. Fish - Culturist, 45, 167 - 9
- Beleau, M.H. (1986) Recent experiences with the drug approval process: need and role for drug metabolism data. Vel. Human Toxicol., 28, Suppl. 1, 8 - 10
- Bills, T.D., Marking, L.L. and Chandler, J.H., Jr (1977) Formalin: its toxicicy to non target aguatic organisms, persistence and counteraction. Invest. Fish Control, 73

11. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

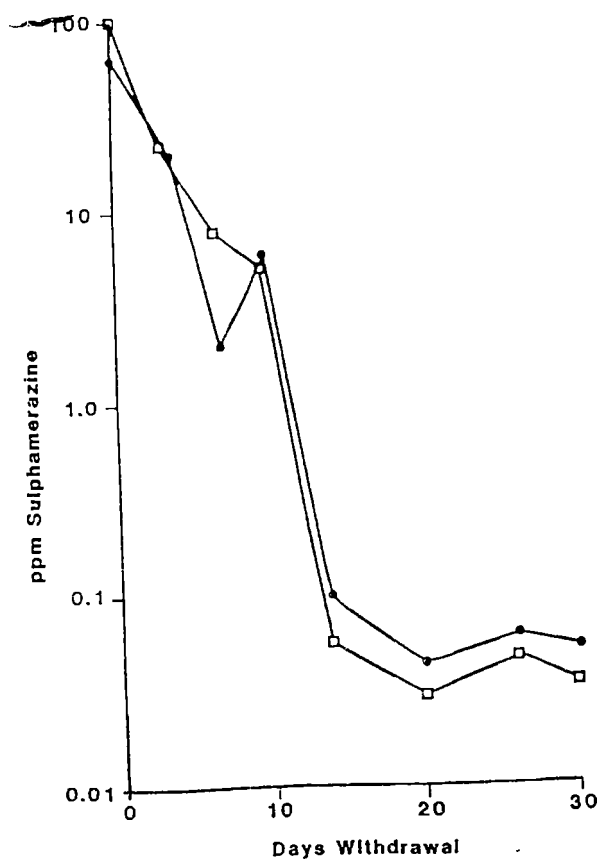
Εικόνα 1.1: Σουλφοναμίδες και τριμεθοπρίμη. (a) Σουλφαδιμιδίνη (σουλφαμεθαζίνη), (b) Σουλφανιλαμίδα, © Σουλφαμεραζίνη, (d) Σουλφαδιαζίνη, (e) Σουλφισοξαζόλη, (g) Τριμεθοπρίμη.



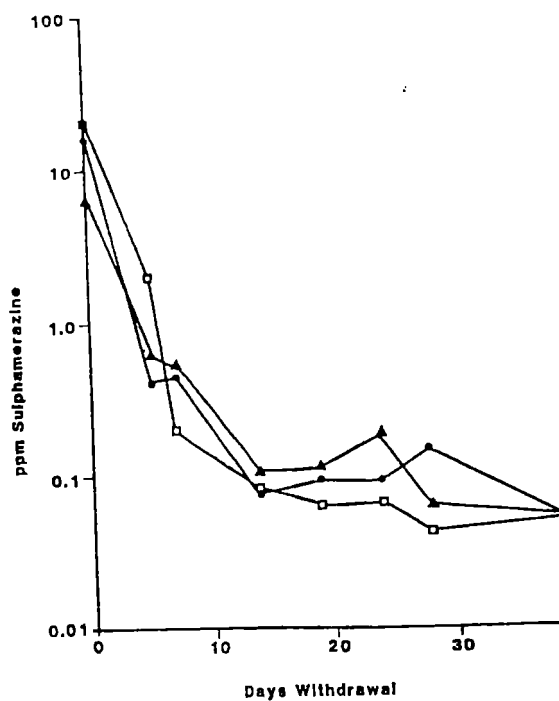
Πίνακας 1.1: Χαρακτηριστικά των συνήθως χρησιμοποιούμενων σουλφωναμίδων.

Ελλιπώς αφωμειωμένες, τοπικά ενεργές	Σουλφακβανιδίνη
Καλά αφωμειούμενη, ταχεία εκρέουσα	Σουλφαμεθιζόλη
	Σουλφαδιαζόλη
	Σουλφαδιμιδίνη
	Σουλφανιλομίδη
	Σουλφασοξαζόλη
Επαρκώς αφωμειούμενη, μέτρια αναλογία έκκρισης	Σουλφαμεθοξαζόλη
	Σουλφαδιαζίνη
Επαρκώς αφωμειούμενη, αργά εκρέουσα	Σουλφαμεραζίνη
	Σουλφαμεθοξίνη

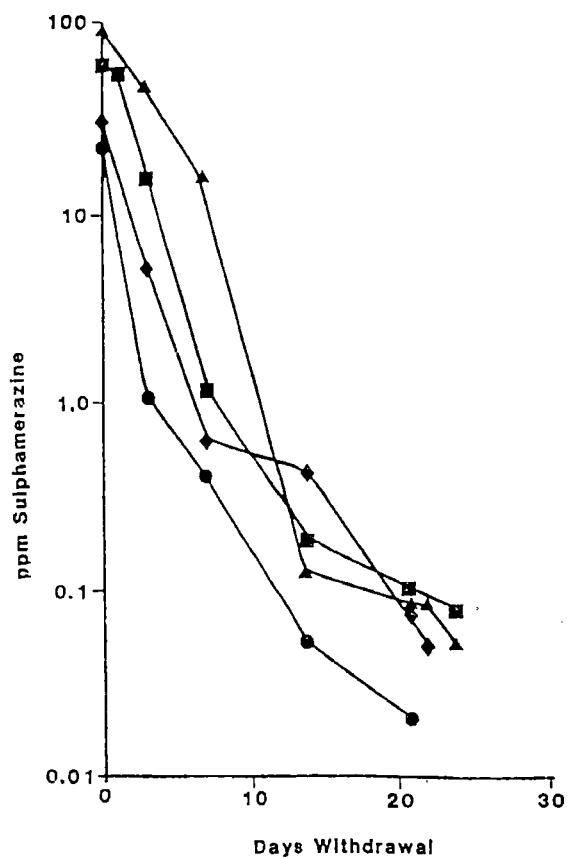
Εικόνα 1.2: Μέσα ολικά (ελεύθερα και μη) επίπεδα σουλφαμεραζίνης στον μυ της ιριδίζουσας και της ποτάμιας πέστροφας κατόπιν θεραπείας στους 12°C.



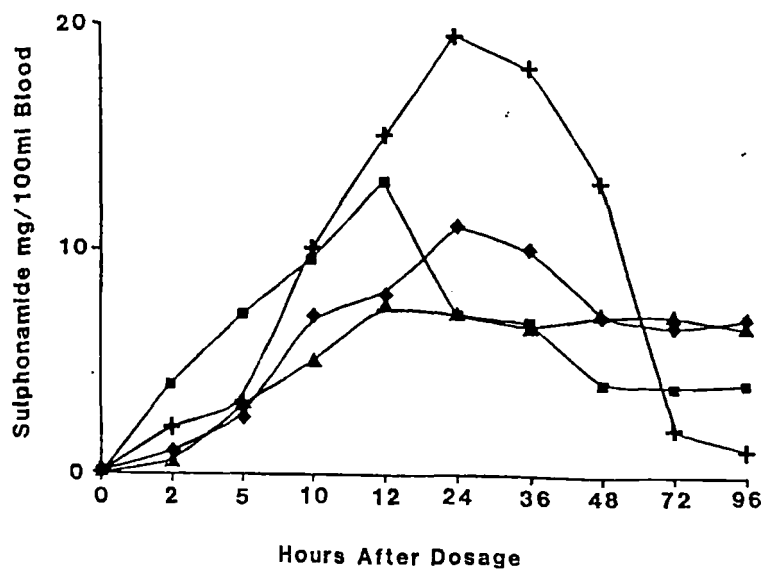
Εικόνα 1.3: Μέσα ολικά (ελεύθερα και μη) επίπεδα σουλφαμεραζίνης στον μυ της ιριδιζουσας και της ποτάμιας πέστροφας κατόπιν θεραπείας σε 7.7°C.



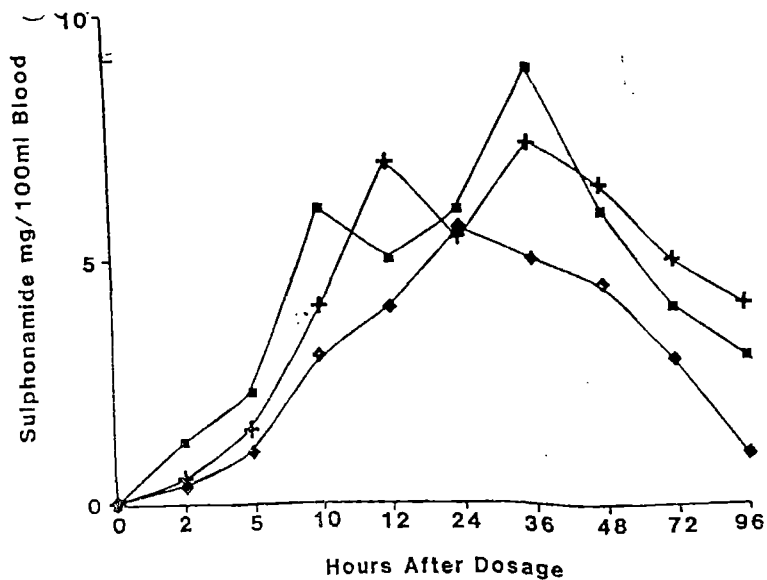
Εικόνα 1.4: Μέσα ολικά (ελεύθερα και μη) επίπεδα σουλφαμεραζίνης σε τέσσερις προσπάθειες στον μυ της καφέ πέστροφας κατόπιν θεραπείας.



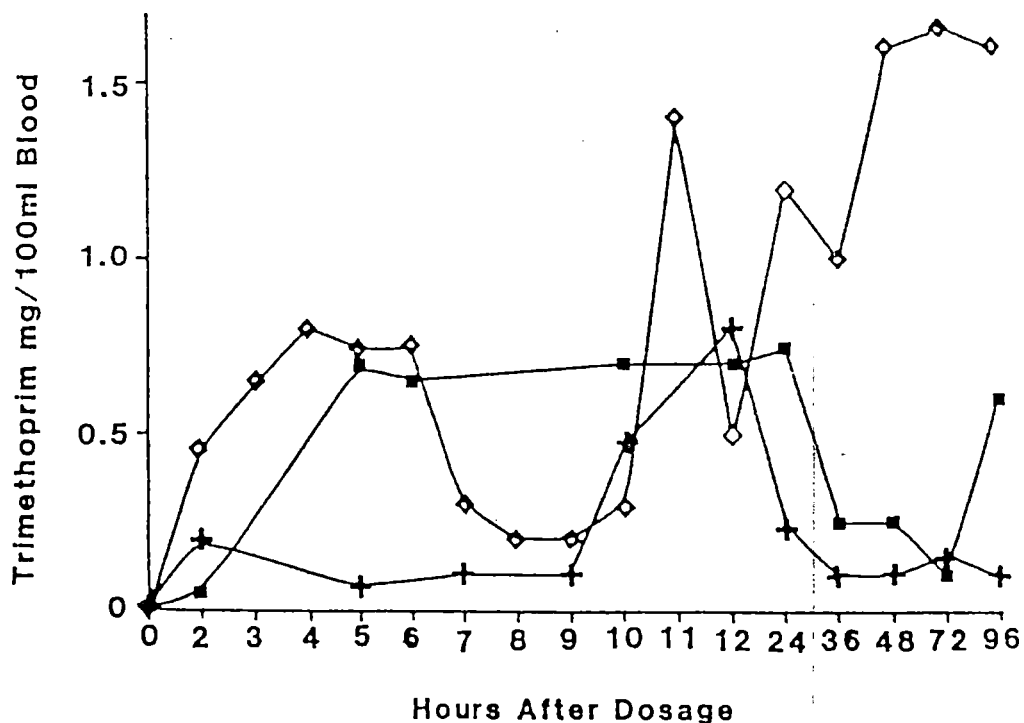
Εικόνα 1.5: Επίπεδα συγκεντρώσεων αίματος της σουλφανιλαμίδης, σουλφαμεθυλφенаζόλης, σουλφαδιμιδίνης και σουλφαμεραζίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα.



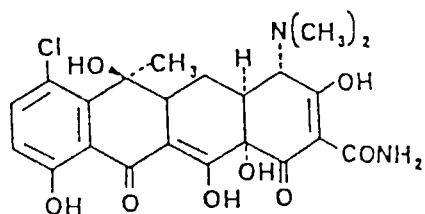
Εικόνα 1.6: Επίπεδα συγκεντρώσεων αίματος της σουλφαμεθοξυπυριδαζίνης, της σουλφαδιαζίνης και της σουλφαθιαζόλης.



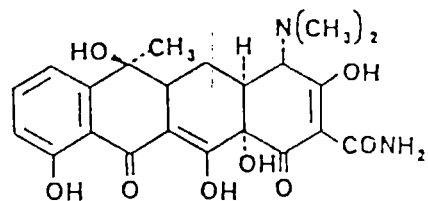
Εικόνα 1.7: Επίπεδα τριμεθοπρίμης στο αίμα, στον μυ και στο Kidney.



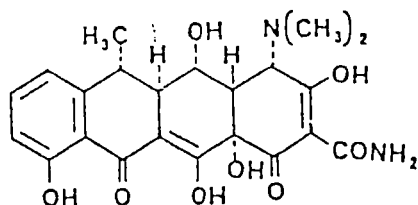
Εικόνα 1.8: Τετρακυκλίνες που χρησιμοποιούνται στις αλοιφές. (a) Χλωροτετρακυκλίνη, (b) οξυτετρακυκλίνη, © δοξυκυκλίνη.



(a)



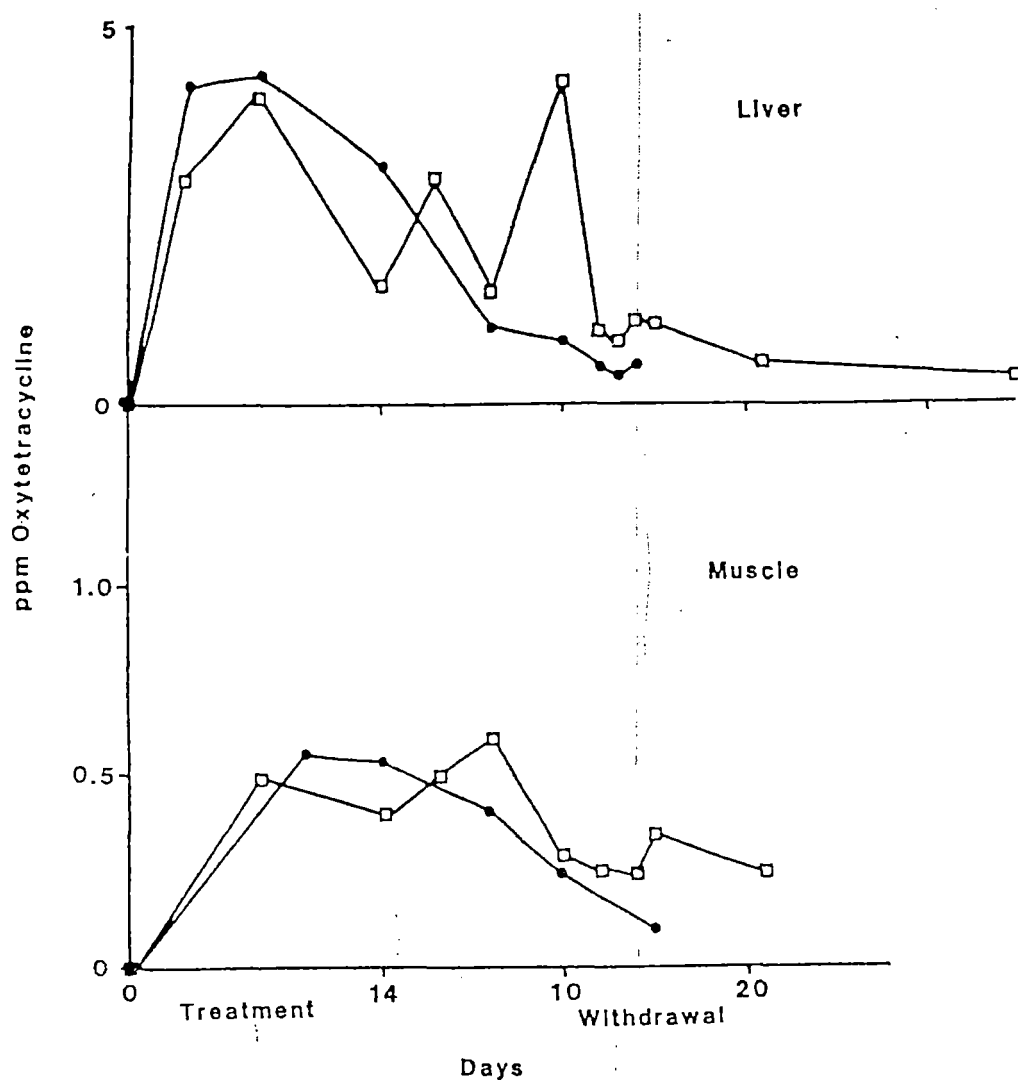
(b)



(c)

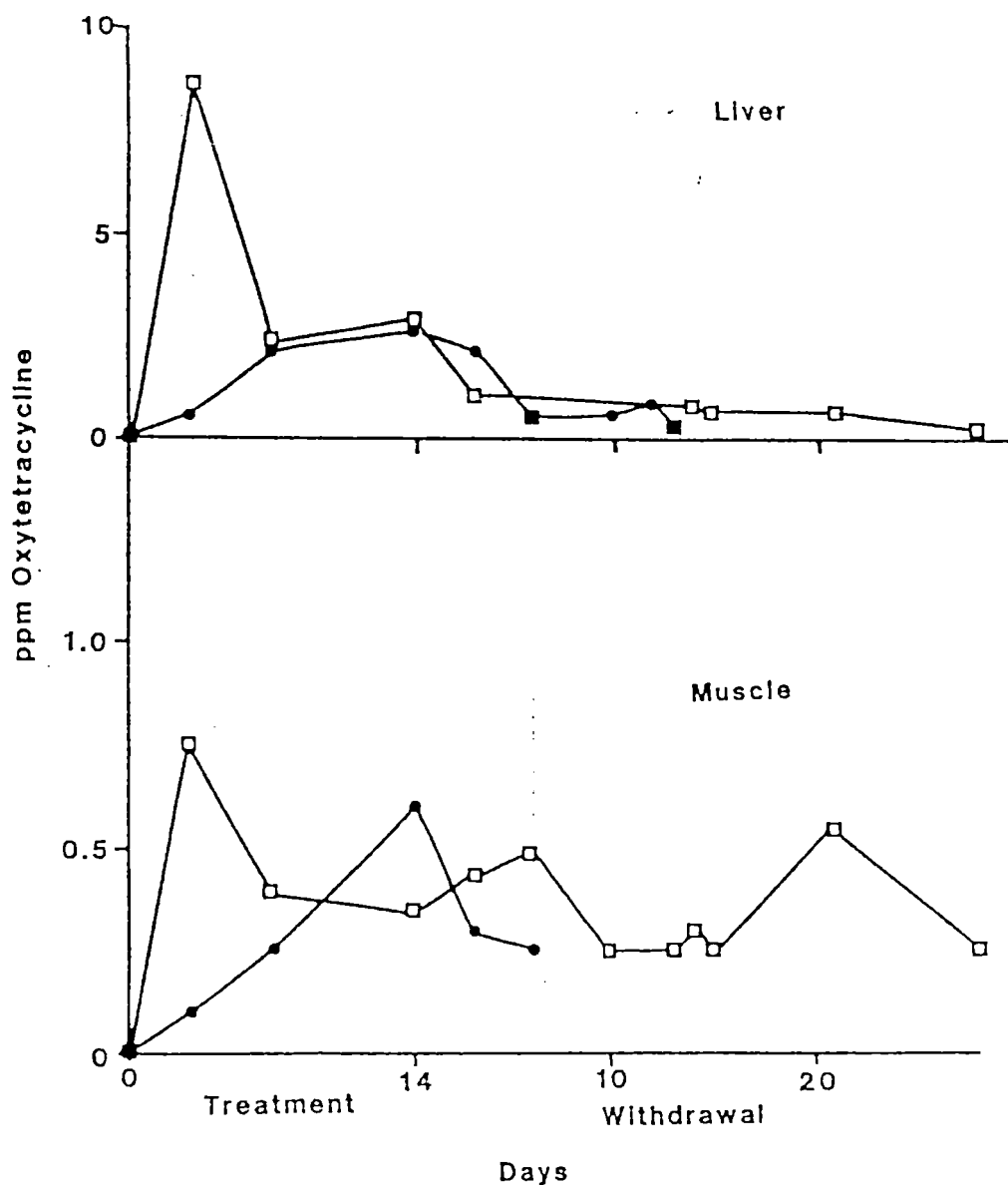
Εικόνα 1.9: Μέση τιμή υπολειμμάτων σε οξυτετρακυκλίνη στην ιριδίζουσα πέστροφα σε αγωγή σε δύο θερμοκρασίες (6-7°C και 12-13°C).

Figure 1.9: Average oxytetracycline residues in rainbow trout post-treatment at two temperatures (\square 6-7°C, \bullet 12-13°C)



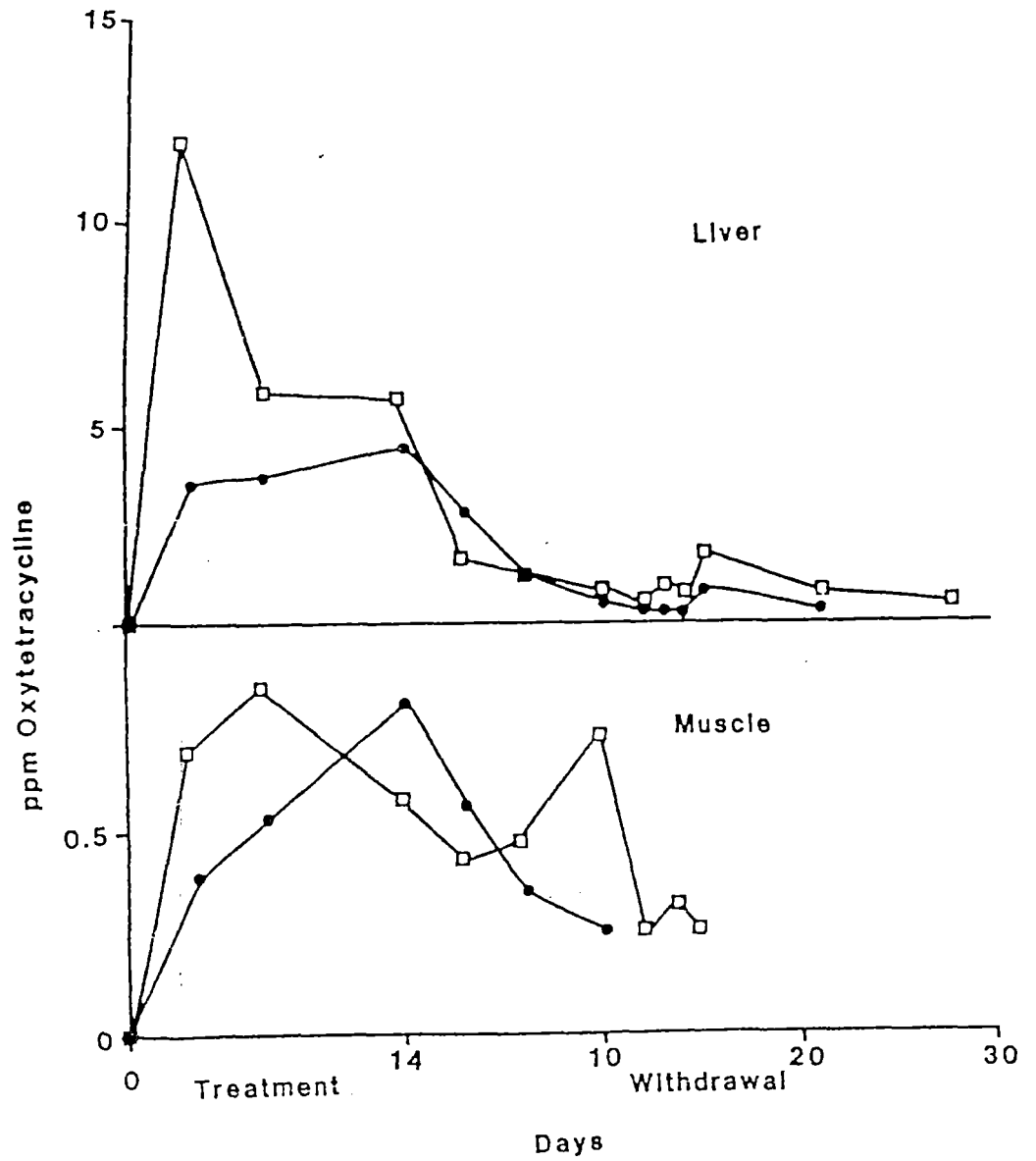
Source: After Herman *et al.* (1969).

Εικόνα 1.10: Μέση τιμή υπολειμμάτων σε οξυτετρακυκλίνη στην πέστροφα του ποταμού σε αγωγή σε δύο θερμοκρασίες (6-7°C και 12-13°C).



Source: Alter Herman *et al.* (1969).

Εικόνα 1.11: Μέση τιμή υπολειμμάτων οξυτετρακυκλίνη σε καφέ πέστροφα σε αγωγή σε δύο θερμοκρασίες (6-7°C και 12-13°C).



Source: Alter Herman *et al.* (1969).

Πίνακας 1.2 Κατάλοιπα οξυτετρακυκλίνης σε γατόψαρο του καναλιού που παρέμειναν σε θερμοκρασία νερού 16.6 - 21.1°C

Θεραπευτική αγωγή (h)	Επίπεδο δόσης (mg/kg ψαριού)	Μυς	Κατάλοιπα σε ppm στο:	
			Συκώτι	Ορός
4	50	<0,25 NZ ^b	<0,15NZ	0,169 ^c
24	50	<0,25 NZ	<0,15NZ	0,179 (2/4)
48	50	<0,25 NZ	<0,15NZ	0,168 (1/4)
72	50	<0,25 NZ	<0,15NZ ^a	0,228(1/4)
120	50	<0,25 NZ	<0,15NZ	0,09 NZ
4	100	<0,25 NZ	0,255 (1/4)	0,213 (1/4)
24	100	<0,25 NZ	0,475 (1/4)	0,135 (2/4)
48	100	<0,25 NZ	<0,15NZ	<0,09NZ
72	100	<0,25 NZ	<0,15NZ	<0,09NZ
120	100	<0,25 NZ	<0,15NZ	<0,09NZ
4	200	0,255 (1/4)	0,450 (2/4)	0,171
24	200	0,25 NZ	<0,15NZ	0,164(2/4)
48	200	0,25	<0,15NZ	0,148 (3/4)
72	200	0,25	0,210 (3/4)	0,123 (1/4)
120	200	-	0,255 (1/4)	<0,09NZ
168	200	-	0,410(1/4)	<0,09NZ
240	200	-	<0,15NZ	<0,09NZ
336	200	-	<0,15NZ	<0,09NZ

Σημείωση: a Μελέτη καταλοίπων τέσσερα δείγματα ανά ιστό σε κάθε στιγμή της θεραπευτικής αγωγής

b NZ, δεν υπάρχει ζώνη απαγόρευσης

c Πλήθος δειγμάτων σε τέσσερα ενδεικτικά υπολείμματα

Πηγή: μετά από τον Meyer et al. (1969).

Πίνακας 1.3 Κατάλοιπα οξυτετρακυκλίνης στο γατόψαρο του καναλιού που παρέμειναν σε θερμοκρασία νερού 22.2-25.0°C

Θεραπευτική αγωγή (h)	Επίπεδο δόσης (mg/kg ψαριού)	Μυς	Κατάλοιπα σε PPM στο:	
			Συκώτι	Ορός
4	50	<0,15 NZ ^b	0,140	0,127 (2/3) ^c
24	50	<0,15 NZ	0,150 (3/4)	<0,09 NZ
48	50	<0,15 NZ	0,258	<0,09 NZ
72	50	<0,15 NZ	0,125 (1/4)	<0,09 NZ
120	50	-	<0,10 NZ	-
168	50	-	0,130 (2/4)	-
240	50	-	0,115 (2/4)	-
336	50	-	<0,10 NZ	-
504	50	-	<0,10 NZ	-
4	100	<0,15 NZ	0,147 (2/3)	0,100 (1/3)
24	100	0,285 (1/4)	0,122 (2/4)	0,09 (1/4)
48	100	<0,15 NZ	0,180	<0,09 NZ
72	100	<0,15 NZ	0,110 (1/4)	<0,09 NZ
120	100	<0,15 NZ	0,140 (2/4)	<0,09 NZ
168	100	<0,15 NZ	0,145	<0,09 NZ
240	100	<0,15 NZ	0,110 (1/4)	<0,09 NZ
336	100	<0,15 NZ	0,117 (2/4)	-
504	100	<0,15 NZ	<0,10 NZ	-
4	200	<0,15 NZ	0,348	0,096 (2/3)
24	200	<0,15 NZ	0,122 (3/4)	<0,09 NZ
48	200	<0,15 NZ	0,209	<0,09 NZ
72	200	<0,15 NZ	<0,10	<0,09 NZ
120	200	<0,15 NZ	0,120 (1/4)	<0,09 NZ
168	200	<0,15 NZ	0,150	<0,09 NZ
240	200	<0,15 NZ	0,115 (1/4)	<0,09 NZ
336	200	<0,15 NZ	0,100 (1/4)	-
504	200	<0,15 NZ	<0,10 NZ	-

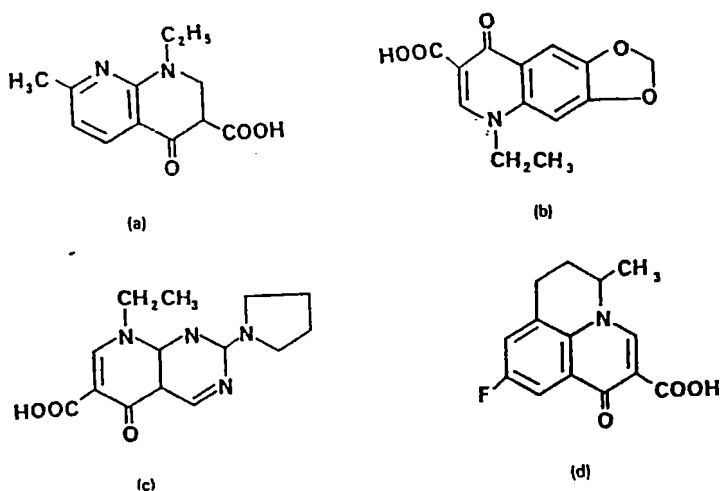
Σημείωση: α Μελέτη κατάλοιπων - τέσσερα δείγματα ανά ιστό σε κάθε περίοδο θεραπευτικής αγωγής

β NZ Δεν υπάρχει ζώνη ενδημισμού

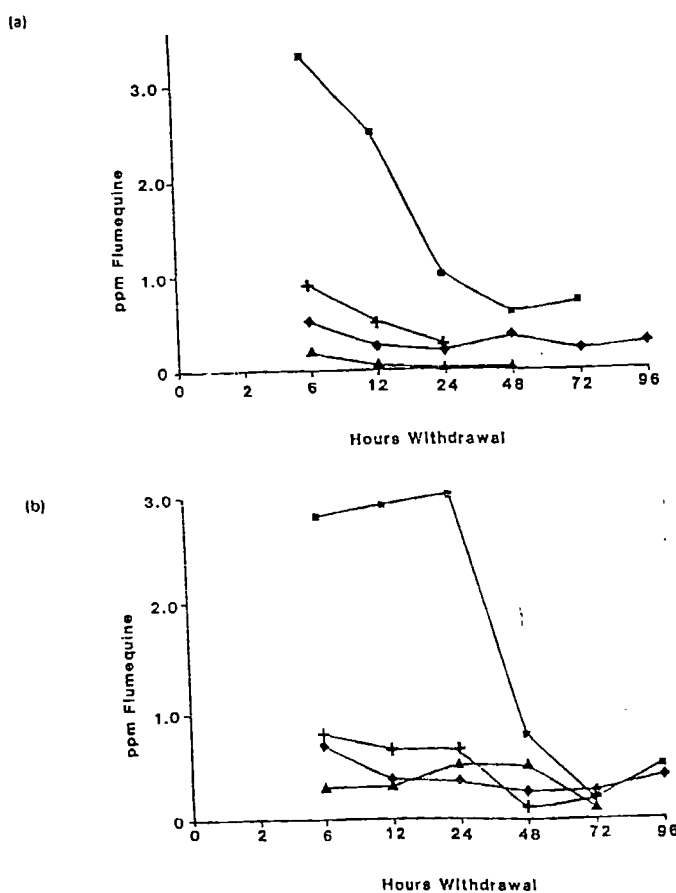
γ Πλήθος δειγμάτων σε τέσσερις ενδεικτικές ποσότητες υπολειμμάτων

Πηγή: Μετά από τον Meyer et al. (1969).

Εικόνα 1.12: 4 - κβινολόνη αντιμικροβιακός παράγοντας χρησιμοποιούμενος στις αλιείες. (a) ναλιδικό οξύ, (b) οξολινικό οξύ, © πιρομιδικό οξύ, (ι) φλουμεκβίνη.



Εικόνα 1.13: Θεραπευτική αγωγή στο υπόλειμμα της φλουμεκβίνης στον ιστό της ιριδίζουσας πέστροφας μετά από: (a) πενταήμερη 6mg / kg per body weight regime, (b) πενταήμερη 12 mg / kg ανά μονάδα βάρους σώματος στο έντερο, στο συκώτι, στα βράγχια και στον μυ.



Πίνακας 1.4: Επίπεδα του οξολινικού οξέως στους ιστούς.

Σε ιριδίζουσα πέστροφα βάρους 160gr σε θερμοκρασία 8 - 11°C						
Ιστός	Μέρες μετά από administration					
	1	3	5	7	10	13
Οξολινικό οξύ (µg/gr)						
Μυς	1,99	0,54	0,04	0,02	0,02	No
Συκώτι	2,49	0,80	0,07	0,03	0,02	No

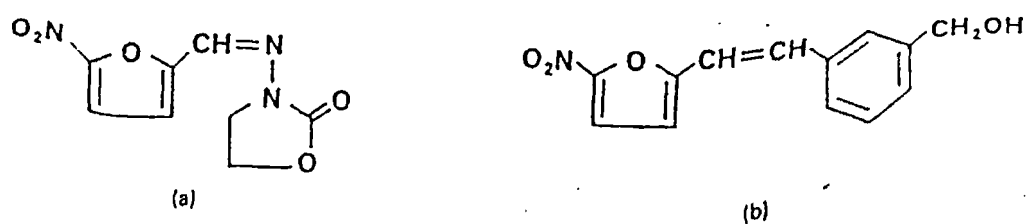
Σε ιριδίζουσα πέστροφα βάρους 240gr σε θερμοκρασία 17 - 19,5°C						
Ιστός	Μέρες μετά από administration					
	1	3	5	7	14	21
Οξολινικό οξύ (µg/g)						
Μυς	2,09	0,34	0,07	0,06	0,02	No
Συκώτι	2,98	0,42	0,05	0,03	0,02	No

Σε ιριδίζουσα πέστροφα βάρους 50gr σε θερμοκρασία 17 - 19,5°C					
Ιστός	Μέρες μετά από administration				
	1	3	5	7	14
Οξολινικό οξύ (µg/g)					
Μυς	0,56	0,05	0,02	No	No
Συκώτι	2,08	0,18	0,08	No	No

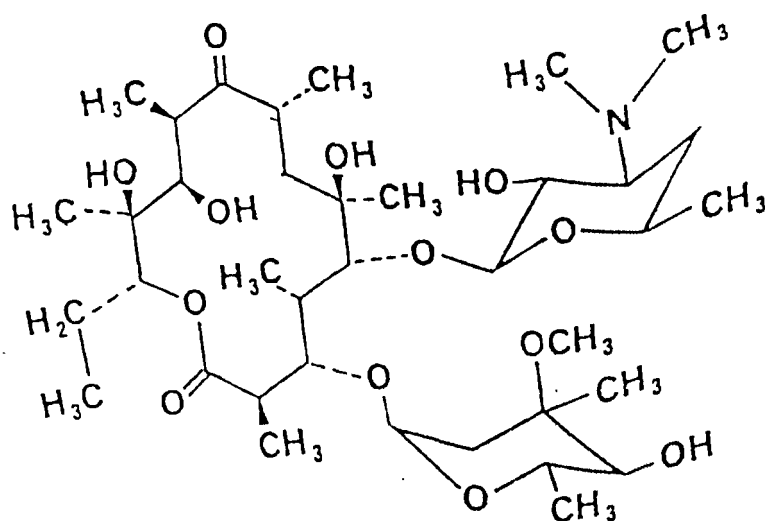
Σε ιριδίζουσα πέστροφα βάρους 10gr σε θερμοκρασία 8 - 10,5°C								
Ιστός	Μέρες από administration							
	1	3	5	7	10	13	16	19
Οξολινικό οξύ (µg/g)								
Μυς	1,72	1,02	0,23	0,05	0,04	0,02	No	No
Συκώτι	2,18	2,00	0,38	0,20	0,12	0,08	0,03	No

Πηγή: Kasuga et al. (1984)

Εικόνα 1.14: Νιτροφουράνες που χρησιμοποιούνται στις Αλιείες. (a) φουραζολιδόνη, (b) νιφουπιρινόλη



Εικόνα 1.15: Ερυθρομυκίνη



Εικόνα 1.16: Χλωραμφενικόλη

